FOR EXPORT USE ONLY. NOT FOR SALE IN THE USA

illumigene®

HSV 1&2
DNA Amplification Assay

DNA Amplification Assay for the Detection of Herpes Simplex Virus Type 1 and Herpes Simplex Virus Type 2

REF **280650** IVD **In vitro diagnostic medical device** **R_x Only**

INTENDED USE

The ***illumi****gene* HSV 1&2 DNA amplification assay, performed on the ***illumi****pro-10*™, is a qualitative in vitro diagnostic test for the direct detection and differentiation of herpes simplex virus type 1 (HSV-1) and herpes simplex virus type 2 (HSV-2) in cutaneous and mucocutaneous lesion specimens.

illumi*gene* HSV 1&2 utilizes loop-mediated isothermal DNA amplification (LAMP) technology to detect HSV-1 and HSV-2 by targeting segments of the herpes simplex virus 1 and herpes simplex virus 2 genomes. Results from ***illumi****gene* HSV 1&2 are used as an aid in the diagnosis of HSV infection in male and female symptomatic patients.

illumi*gene* HSV 1&2 is not intended to be used with cerebrospinal fluid (CSF) or to aid in the diagnosis of HSV infections of the central nervous system (CNS). The device is not intended for prenatal screening. The assay is intended for use in hospital, reference or state laboratory settings. This device is not intended for nonlaboratory point-of-care use.

SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

illumi*gene* HSV 1&2 is based on loop-mediated amplification (LAMP)[1, 2] technology. The assay individually targets regions of the HSV-1 and HSV-2 genomes in two separate Test Devices. The HSV-1 target is a 208 base pair (bp) sequence of the HSV-1 glycoprotein G (US4) gene. The HSV-2 target is a 189 bp sequence of the HSV-2 glycoprotein G (US4) gene.

Loop-mediated amplification uses specially designed primers to provide for specific and continuous isothermal DNA amplification. A by-product of amplification is magnesium pyrophosphate, which forms a white precipitate leading to a turbid reaction solution. Reaction solution absorbance characteristics are monitored by the Meridian ***illumi****pro-10* Incubator/Reader. Changes in reaction solution absorbance characteristics created by precipitation of magnesium pyrophosphate indicate the presence of target DNA. The absence of target DNA results in no significant change in sample absorbance.

The ***illumi****gene* HSV 1&2 kit includes ***illumi****gene* Sample Preparation Apparatus III (SMP PREP III), ***illumi****gene* HSV 1 Test Devices, ***illumi****gene* HSV 2 Test Devices, Mineral Oil, Heat Treatment Tubes, and 50 µL transfer pipettes. The ***illumi****gene* SMP PREP III, used for specimen dilution and preparation, includes a Tris-buffered solution containing formalin-treated *E. coli* harboring *Staphylococcus aureus* DNA. The ***illumi****gene* HSV 1 Test Device contains one lyophilized amplification reagent bead in each of two chambers: a TEST chamber with HSV-1-specific primers and a CONTROL chamber with *S. aureus*-specific primers. The ***illumi****gene* HSV 2 Test Device contains one lyophilized amplification reagent bead in each of two chambers: a TEST chamber with HSV-2-specific primers and a CONTROL chamber with *S. aureus*-specific primers. The *S. aureus* DNA in SMP PREP III and the *S. aureus*-specific primers in the Test Device CONTROL chambers function as the Internal Control for the assay. During specimen preparation, each patient specimen is added to the SMP PREP III containing Assay Control and combined with the *S. aureus* DNA prior to amplification. Addition of *S. aureus* DNA to the patient sample allows for parallel processing of target DNA and control DNA through amplification and detection. The Internal Control monitors amplification inhibition, assay reagent performance and sample processing effectiveness. The control *S. aureus* target must be amplified and detected in the final reaction or the test is considered invalid and results are not reported.

The ***illumi****pro-10* monitors changes in absorbance characteristics by measuring transmission of light through the TEST and CONTROL reaction solutions. Light transmission is checked at the assay Run Start ($Signal_{initial}$, S_i) and at the assay Run End ($Signal_{final}$, S_f). The ***illumi****pro-10* calculates the change in light transmission between Run End and Run Start (S_f:S_i) and compares the ratio to a fixed cut-off value.

Fixed cut-off values for the TEST chamber are used to report sample results. TEST chamber S_f:S_i ratios less than 82% are reported as 'POSITIVE'; TEST chamber S_f:S_i ratios greater than or equal to 82% are reported as 'NEGATIVE'. *Numerical values are not reported.*

Fixed cut-off values for the CONTROL chamber are used to determine validity. CONTROL chamber S_f:S_i ratios less than 90% are considered valid and allow for reporting of TEST chamber results (POSITIVE, NEGATIVE). CONTROL chamber S_f:S_i ratios greater than or equal to 90% are considered invalid and prevent reporting of TEST chamber results. Invalid CONTROL chamber reactions are reported as 'INVALID'. *Numerical values are not reported.*

More stringent cut-off criteria are applied to the CONTROL chamber reaction to ensure amplification is not inhibited, reagents are performing as intended and that sample processing was performed appropriately.

BIOLOGICAL PRINCIPLES

Herpes simplex virus causes chronic, recurrent infections and viral meningitis in adults and children. Infection with herpes simplex virus type 1 (HSV-1) is relatively common, with an overall seroprevalence approaching 54% of the United States population.[3] Herpes simplex virus Type 2 (HSV-2) is the primary cause of genital herpes. It is estimated that 50 million people in the US and >400 million worldwide are infected with HSV-2 genital herpes, or about 1 out of every 5 people.[4, 5] While either HSV-1 or HSV-2 is capable of oral or genital infections, HSV-1 is typically associated with oral lesions and HSV-2 is typically associated with genital lesions. However, the frequency of HSV-1 genital infection is increasing.[3, 6] HSV transmission to neonates can occur during birth, causing symptoms ranging from disseminated disease (CNS and visceral organs) to infection of the skin, eye, and mouth.[7]

HSV infection can be diagnosed using microscopy, cell culture, molecular, and serological methods;[8] cell culture and PCR are the preferred diagnostic methods recommended by the Centers for Disease Control.[4] The sensitivity of viral culture is low, particularly for recurrent or healing lesions, due to limited quantity of viable virus.[4] The HSV type cannot be directly determined from viral culture, requiring additional typing methods (such as ELVIS).[8] NAAT methods are more sensitive than culture, have the ability to differentiate between HSV types, and provide rapid results.[8]

REAGENTS/MATERIALS PROVIDED

The maximum number of tests obtained from this test kit is listed on the outer box.

1. ***illumigene*** **Sample Preparation Apparatus III (SMP PREP III):** Tris-buffered solution containing formalin-treated *E. coli* harboring *S. aureus* DNA and sodium azide (0.09%) as a preservative.
2. ***illumigene*** **HSV 1 Test Device:** Two-chambered device containing lyophilized amplification reagents (DNA polymerase, deoxynucleotide triphosphates) and either HSV-1-specific primers (TEST chamber) or *S. aureus*-specific primers (CONTROL chamber)**.**
3. ***illumigene*** **HSV 2 Test Device:** Two-chambered device containing lyophilized amplification reagents (DNA polymerase, deoxynucleotide triphosphates) and either HSV-2-specific primers (TEST chamber) or *S. aureus*-specific primers (CONTROL chamber)**. The *illumigene* HSV 2 Test Device is visually identified by an orange band on the Test Device closure tab.**
4. **Mineral Oil** (bottle with dropper tip)
5. ***illumigene*** **Heat Treatment (HT) Tubes**
6. **Transfer Pipettes**

MATERIALS PROVIDED SEPARATELY

illumigene HSV 1&2 External Control Kit, Catalog Number: 279960

MATERIALS NOT PROVIDED

1. Disposable latex gloves, powder free
2. DNase/RNase-free, aerosol resistant pipette tips
3. Viral transport medium: MicroTest™ M4®, MicroTest™ M4RT®, MicroTest™ M6™, UniTranz-RT™ Transport System, Copan UTM™ Virus Collection, HealthLink® UTM or identical transport medium*, BD Universal Viral Transport Medium (UVT), ViraTrans™ VTM, Hardy Diagnostics VTM.
   **HealthLink UTM is equivalent to Quest V-C-M Medium*

EQUIPMENT NOT PROVIDED

1. Dry-bath with 12 mm heat block capable of 95 C
2. Digital thermometer with max/min temperature memory (eg, Traceable® Lollipop™ Waterproof/Shockproof Thermometer)
3. Vortex mixer
4. Interval timer
5. Micropipette capable of dispensing 50 µL
6. ***illumipro-10***™, Meridian Bioscience, Inc. Catalog Number: 610172

PRECAUTIONS

1. All reagents are for in vitro diagnostic use only.
2. Viral transport media containing protein stabilizers, such as MicroTest™ M5® and calcium alginate swabs, are not acceptable for ***illumigene*** HSV 1&2 specimen collection and transport.
3. Do not interchange the Sample Preparation Apparatus or Test Devices between lots. Mineral Oil and Heat Treatment Tubes are interchangeable provided they are within the assigned expiration date when used.
4. Follow Biosafety Level 2 and Good Laboratory practices during testing.[9] Treat all specimens and used Test Devices as capable of transmitting infectious agents. Do not eat, drink or smoke in areas where specimens or kit reagents are handled.
5. Wear disposable gloves while handling specimens and thoroughly wash hands afterwards.
6. Quality Control Programs for Molecular Testing Laboratories, including proper use and care of equipment, should be employed.[10]
7. The ***illumigene*** HSV 1&2 Test Devices contain lyophilized reagents. The protective pouches should not be opened until ready to perform the assay.
8. The ***illumigene*** HSV 1&2 Test Devices include a latch feature that is designed to prevent contamination of the test area with amplification product. Do NOT use Test Devices with broken latches.
9. Dispose of used ***illumigene*** HSV 1&2 Test Devices immediately after processing, leaving the device latch securely in place. Do NOT open the Test Device after processing. Opening the device after amplification may result in contamination of the test area with amplification product.

HAZARD AND PRECAUTIONARY STATEMENTS

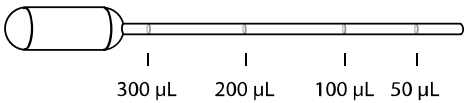
There are no known hazards associated with this product.

SHELF LIFE AND STORAGE

The expiration date is indicated on the kit label. Store the kit at 2-30 C.

PROCEDURAL NOTES

The transfer pipette included in the ***illumigene*** HSV 1&2 kit is individually wrapped and capable of dispensing 50 µL. The pipette is diagrammed below.



REAGENT PREPARATION

Ensure kit reagents are at room temperature (19-30 C) before use. Incorrect results may be obtained if reagents are not brought to room temperature prior to use.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Sample type: Human cutaneous and mucocutaneous lesion swab samples in viral transport media. The following viral transport media are acceptable for use: MicroTest™ M4®, MicroTest™ M4RT®, MicroTest™ M6™, UniTranz-RT™ Transport System, Copan UTM™ Virus Collection, HealthLink® UTM or identical transport medium*, BD Universal Viral Transport Medium (UVT), ViraTrans™ VTM, Hardy Diagnostics VTM.
**HealthLink UTM is equivalent to Quest V-C-M Medium*

NOTE: Viral transport media with protein stabilizers, ie, MicroTest™ M5® and calcium alginate swabs, are not acceptable sample types for use.

Sample Collection: Cutaneous and mucocutaneous lesion sample collection should be performed in accordance with institutional guidelines for collection of clinical specimens for herpes simplex virus infection.

Place swab(s) in a viral transport medium. Samples should be stored refrigerated (2-8 C) after collection and during transportation to the laboratory. Samples should be tested as soon as possible, but may be stored refrigerated (2-8 C) up to 7 days prior to testing. Do not freeze samples.

SPECIMEN PREPARATION

NOTE: Ensure that the ***illumi****pro-10* is powered on and required performance verifications have been completed prior to initiation of SPECIMEN PREPARATION. Refer to the ***illumi****pro-10* Operator's Manual for further information regarding instrument set-up and operation.

NOTE: Ensure specimens are at room temperature (19-30 C) before specimen preparation.

1. Vortex the collected swab in transport medium for approximately 45-60 seconds.
2. Using a transfer pipette, transfer 50 µL of the swab medium into one ***illumi****gene* SMP PREP III. Discard the transfer pipette. Label the SMP PREP with the specimen identification.
3. Replace SMP PREP III cap and vortex for approximately 10 seconds.
4. Remove the tip cap from the SMP PREP III and squeeze the entire contents of the SMP PREP III into a Heat Treatment Tube. Label the tube with the specimen identification.
5. Repeat SPECIMEN PREPARATION steps for all samples to be processed. Processed samples may be held up to 2 hours at room temperature (19-30 C) prior to heat treatment.
6. Heat each Heat Treatment Tube containing sample in a dry-bath/heat block at 95 ± 5 C for 10 ± 2 minutes. Monitor heat-treatment step with digital thermometer and interval timer.
7. Remove each Heat Treatment Tube from the dry-bath/heat block. Heat-treated samples may be held at room temperature (19-30 C) for up to 15 minutes prior to testing.

NOTE: The amount of sample prepared at the end of SPECIMEN PREPARATION is enough to complete both ***illumi****gene* HSV 1 and HSV 2 testing.

TEST PROCEDURE

NOTE: A maximum of 5 samples can be processed for both HSV 1 and HSV 2 in a single ***illumi****pro-10* run. **HSV 2 Test Devices are identified by an orange band on the Test Device closure tab.**

1. Vortex heat-treated samples for approximately 10 seconds.
2. Use 1 ***illumi****gene* HSV 1 Test Device and 1 ***illumi****gene* HSV 2 Test Device per sample. Remove the devices from their protective pouches. Carefully open the devices, holding the chambers such that the lyophilized reagents will not fall out upon opening. Place devices on a flat surface or in a rack that can accommodate the devices.
3. Using a micropipette, transfer 50 µL of the sample to both the TEST (White Bead) and CONTROL (Yellow Bead) chambers of the ***illumi****gene* HSV 1 Test Device and the HSV 2 Test Device. Take care to not introduce air to the reaction mixtures.
4. Add 1 drop of Mineral Oil to both the TEST and CONTROL chambers of the ***illumi****gene* HSV 1 and HSV 2 Test Devices. Close the ***illumi****gene* Test Devices and fasten the latches securely.
5. Tap each device on the bench top or mix to remove air bubbles. Carefully examine each Test Device for rehydration of the Control/Test Beads, for air bubbles left in the chamber and liquid in the top of the device. If undissolved beads, air bubbles or liquid in the top of the device are noted, tap the device on the bench top and repeat visual inspection. Amplification and detection should be initiated within 15 minutes.
6. Repeat TEST PROCEDURE steps for all samples to be tested.
7. Insert the ***illumi****gene* Test Devices into the ***illumi****pro-10* and initiate run. Results will be displayed at the conclusion of the run.

INTERPRETATION OF RESULTS

Sample ID	Reported Result	Interpretation
Patient Specimen	POSITIVE	**HSV 1 TEST DEVICE:** Sample contains HSV-1 target DNA. **HSV 2 TEST DEVICE:** Sample contains HSV-2 target DNA.
	NEGATIVE	**HSV 1 TEST DEVICE:** No HSV-1 target DNA detected. **HSV 2 TEST DEVICE:** No HSV-2 target DNA detected.
	INVALID	**No reportable result. Repeat the test using the original sample.** Inhibitory patient specimen, improper sample preparation, reagent failure, instrument failure or internal control failure.
Positive Control	POSITIVE	Valid positive control result. Reagents active at time of use, ***illumi****pro-10* performing correctly.
	NEGATIVE	**Incorrect control result.** Repeat the control tests as the first step in determining the root cause of the failure. If control failures are repeated please contact Meridian's Technical Services Department at 1-800-343-3858 (US) or your local distributor.
	INVALID	**No reportable result.** Repeat the control tests as the first step in determining the root cause of the failure. If control failures are repeated please contact Meridian's Technical Services Department at 1-800-343-3858 (US) or your local distributor. Improper sample preparation, reagent failure, instrument failure or internal control failure.
Negative Control	POSITIVE	**Incorrect control result.** Repeat the control tests as the first step in determining the root cause of the failure. If control failures are repeated please contact Meridian's Technical Services at 1-800-343-3858 (US) or your local distributor.
	NEGATIVE	Valid negative control result. Reagents active at time of use, ***illumi****pro-10* performing correctly.
	INVALID	**No reportable result.** Repeat the control tests as the first step in determining the root cause of the failure. If control failures are repeated please contact Meridian's Technical Services Department at 1-800-343-3858 (US) or your local distributor. Improper sample preparation, reagent failure, instrument failure or internal control failure.
EMPTY WELL	NONE	No ***illumi****gene* Test Device in the ***illumi****pro-10* Well. **OR** The ***illumi****gene* Test Device present is compromised due to sample preparation failure, dirty device or improperly seated device. **Repeat the test using original sample.**

QUALITY CONTROL

This test should be performed per applicable local, state, or federal regulations or accrediting agencies.

1. Each device contains an internal control that controls for amplification inhibition, assay reagents and sample processing effectiveness. Internal control DNA is present in the SMP PREP III and is processed through all steps of the procedure. Primers for amplification of internal control DNA are present in the Control Chamber of the ***illumi****gene* Test Device.
2. The heat treatment step is monitored with an external thermometer and interval timer. Use of the max/min temperature memory of the thermometer to ensure that a temperature of 95 ± 5 C is maintained. Use of the interval timer to ensure that heat-treatment duration is 10 ± 2 minutes.
3. Good laboratory practice recommends the use of control materials. Users should follow the appropriate federal, state and local guidelines concerning the running of external quality controls.
4. ***illumi****gene* HSV 1&2 External Control Reagents are supplied separately (Catalog 279960). It is recommended that the reactivity of each new lot and each new shipment of ***illumi****gene* HSV 1&2 be verified on receipt and before use. External control tests should be performed thereafter in accordance with appropriate federal, state and local guidelines. The ***illumi****gene* HSV 1&2 test kit should not be used in patient testing if the external controls do not produce the correct results.
5. A separate Test Device must be used for each external control reagent.

EXPECTED VALUES

The prevalence of HSV-1 and HSV-2 was calculated during 2014-2015 clinical studies based on the age of patient and by lesion anatomical location. The overall incidence during the study was 24.2% (236/975) for HSV-1 and 19.4% (224/1154) for HSV-2. Specific prevalence data is given below.

Combined Study - Cutaneous Prevalence by Sample Anatomical Location (N=306)						
Source	**HSV 1**			**HSV 2**		
	Total #	**Total Positive**	**Prevalence**	**Total #**	**Total Positive**	**Prevalence**
Skin Lesion	92	7	7.6%	92	28	30.4%
Genital -- Penis	214	47	22.0%	214	27	12.6%
Combined Study - Mucocutaneous Prevalence by Sample Anatomical Location (N=852)						
Source	**HSV-1**			**HSV-2**		
	Total #	**Total Positive**	**Prevalence**	**Total #**	**Total Positive**	**Prevalence**
Anorectal	47 (1*)	7	14.9%	46 (2*)	9	19.6%
Genital -- Vaginal/Cervical	624 (2*)	112	17.9%	626	158	25.2%
Nasal	18	9	50.0%	18	0	0.0%
Ocular	20	0	0.0%	20	0	0.0%
Oral Lesion	135	53	39.3%	135	2	1.5%
Urethral	5	1	20.0%	5	0	0.0%

* Number of samples producing invalid ***illumi****gene* result.

Combined Study - Cutaneous Prevalence by Age (N=306)						
Age	**HSV-1**			**HSV-2**		
	Total #	**Total Positive**	**Prevalence**	**Total #**	**Total Positive**	**Prevalence**
≤ 5 years	38	12	31.6%	38	1	2.6%
6 to 12 years	16	7	43.8%	16	1	6.3%
12 to 22 years	59	15	25.4%	59	9	15.3%
22 to 59 years	156	17	10.9%	156	31	19.9%
≥60 years	37	3	8.1%	37	13	35.1%
Not Provided	0	0	0.0	0	0	0.0
Combined Study - Mucocutaneous Prevalence by Age (N=852)						
Age	**HSV-1**			**HSV-2**		
	Total #	**Total Positive**	**Prevalence**	**Total #**	**Total Positive**	**Prevalence**
≤ 5 years	47	8	17.0%	47	0	0.0%
6 to 12 years	16	1	6.3%	16	0	0.0%
12 to 22 years	208 (1*)	58	27.9%	209	53	25.4%
22 to 59 years	512 (1*)	98	19.1%	513	105	20.5%
≥60 years	63 (1*)	17	27.0%	63 (1*)	11	17.5%
Not Provided	3	0	0.0%	2 (1*)	0	0.0%

* Number of samples producing invalid ***illumi****gene* result.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

1. Performance of ***illumi****gene* HSV 1&2 has been established with prospective, male and female cutaneous and mucocutaneous lesion specimens only. Performance with other specimen types (frozen specimens or CSF) has not been established.
2. The assay is not intended to be used for prenatal screening.
3. Medications containing the active ingredient Zincum Gluconicum produced invalid results when tested at 7% v/v with ***illumi****gene* HSV 1&2. The concentration of Zincum Gluconicum tested is excessive compared to the expected concentration of Zincum Gluconicum present in clinical samples; lower concentrations were not tested. The effect of Zincum Gluconicum on ***illumi****gene* HSV 1&2 results have not been determined using clinical specimens.
4. Casein at concentrations greater than 5 mg/mL was found to interfere with the ***illumi****gene* HSV 1&2 assay.
5. This product can only be used with the ***illumi****pro-10* instrument.
6. ***illumi****gene* HSV 1&2 is a qualitative assay and does not provide quantitative values or information about organism load.
7. The detection of nucleic acids is dependent upon proper specimen collection, handling, transportation, storage and preparation. Failure to observe proper procedure in any one of these steps can lead to incorrect results.

8. Organism nucleic acid may persist *in vivo*, independent of organism viability. The ***illumi****gene* HSV 1&2 does not distinguish between viable and nonviable organisms.
9. As with all molecular based diagnostic tests, (A) False-negative results may occur from the presence of inhibitors, technical error, sample mix-up or low numbers of organisms in the clinical specimen; (B) False-positive results may occur from the presence of crosscontamination by target organisms, their nucleic acids or amplified product, and from nonspecific signals.

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The performance characteristics of the ***illumi****gene* HSV 1&2 DNA Amplification Assay were established in clinical studies conducted between October 2014 and March 2015 at seven independent clinical test sites representing four geographically distinct regions throughout the United States. Performance characteristics of the assay were compared to the reference method ELVIS® HSV ID and D[3] Typing Test System.

Samples included cutaneous and mucocutaneous lesion swab specimens from patients suspected of herpes simplex virus type 1 (HSV-1) or type 2 (HSV-2) infection. Samples classified as cutaneous included skin and genital – penis lesions. Samples categorized as mucocutaneous included anorectal, genital-vaginal/cervical, nasal, ocular, oral, and urethral sites.

A total of 1158 eligible leftover, deidentified lesion swab specimens from symptomatic male and female patients were evaluated. Samples were collected from patients ranging in age from 1 day to 89 years. A total of 723 (74.3%) female and 247 (25.3%) male HSV-1 specimens and a total of 871 (75.5%) female and 277 (24.0%) male HSV-2 specimens were tested. There were four (4) HSV-1 (0.4%) and five (5) HSV-2 samples with unknown gender (0.4%). There is no expectation that assay performance is influenced by gender.

One sample was HSV positive by ELVIS, however, could not be identified as HSV-1 or HSV-2 (indeterminate) and was not included in the performance analysis. One sample was tested with contaminated ELVIS cells and could not produce a result (indeterminate). The ELVIS HSV ID and D[3] Typing Test System is unable to detect HSV-1 if HSV-2 has been identified first in coinfected specimens. Therefore, if a specimen was HSV-2 positive by ELVIS it was removed from the calculation of the HSV-1 performance analysis. One hundred and seventy nine (179) specimens were identified as HSV-2 positive by ELVIS and were removed from the HSV-1 data analysis. Two specimens were identified as ***illumi****gene* positive for both HSV-1 and HSV-2, and were excluded from both HSV-1 and HSV-2 performance analyses. The tables below include performance of the remaining 975 HSV-1 specimens and 1154 HSV-2 specimens for all sites combined.

Combined Sites: HSV-1 Cutaneous (N=264)

		Reference Method				Performance			95% CI
		Pos	Neg	Total	INV				
illumi*gene* HSV 1&2	Pos	48	6[a]	54	0	Sens	48/51	94.1%	84.1-98.0%
	Neg	3[b]	207	210	0	Spec	207/213	97.2%	94.0-98.7%
	Total	51	213	264	0				

[a] 6/6 samples identified as HSV-1 positive by an alternative, FDA-cleared molecular assay.
[b] 1/3 samples identified as HSV-1 negative by an alternative, FDA-cleared molecular assay.

Combined Sites: HSV-1 Mucocutaneous (N=710)

		Reference Method				Performance			95% CI
		Pos	Neg	Total	INV[a]				
illumi*gene* HSV 1&2	Pos	152	28[b]	180	0 (1)	Sens	152/160	95.0%	90.4-97.4%
	Neg	8[c]	522	530	2 (8)	Spec	522/550	94.9%	92.7-96.5%
	Total	160	551	710	9				

[a] 6/9 initial invalid samples produced valid positive or negative results on repeat testing; 2/9 were not retested. One was ELVIS indeterminate.
[b] 19/28 samples identified as HSV-1 positive by an alternative, FDA-cleared molecular assay; 3 samples could not be tested.
[c] 7/8 samples were identified as HSV-1 negative by an alternative, FDA-cleared molecular assay; 1 samples could not be tested.

Combined Sites: HSV-2 Cutaneous (N=306)

		Reference Method				Performance			95% CI
		Pos	Neg	Total	INV[a]				
illumi*gene* HSV 1&2	Pos	42	13[b]	55	0	Sens	42/42	100%	91.6-100.0%
	Neg	0	251	251	0 (1)	Spec	251/264	95.1%	91.8-97.1%
	Total	42	264	306	1				

[a] 1 initial invalid sample repeated as negative.
[b] 8/13 samples were identified as HSV-2 positive by an alternative, FDA-cleared molecular assay; 1 sample could not be tested.

Combined Sites: HSV-2 Mucocutaneous (N=847)

		Reference Method				Performance			95% CI
		Pos	Neg	Total	INV[a]				
illumi*gene* HSV 1&2	Pos	135	31[b]	166	0	Sens	135/137	98.5%	94.8-99.6%
	Neg	2[c]	679	681	2 (3)	Spec	679/710	95.6%	93.9-96.9%
	Total	137	710	847	3				

[a] 1/3 initially invalid results repeated as negative on repeat testing.
[b] 24/31 samples were identified as HSV-2 positive by an alternative, FDA-cleared molecular assay; 4 samples could not be tested.
[c] 1/2 samples were identified as HSV-2 negative by an alternative, FDA-cleared molecular assay.

ANALYTICAL SENSITIVITY

Analytical sensitivity or Limit of Detection (LoD) was determined using two strains each of HSV-1 and HSV-2. The LoD was confirmed using 60 replicates and a stated probability (eg, 95%, where 57/60 replicates are positive) of obtaining positive responses.

HSV Strain	$TCID_{50}$/mL
HSV-1 HF (VR-260)	7.20×10^3
HSV-1 McIntyre (VR-539)	9.89×10^4
HSV-2 G (VR-734)	1.20×10^3
HSV-2 MS (VR-540)	1.60×10^3

The final assigned assay LoD is 9.89×10^4 $TCID_{50}$/mL for HSV-1 and 1.60×10^3 $TCID_{50}$/mL for HSV-2.

In addition, twenty (20) HSV-1 and twenty (20) HSV-2 clinical samples from a variety of anatomical locations (ie, oral, genital, anorectal, etc.) were evaluated at the assay LoD for HSV-1 (9.89×10^4 $TCID_{50}$/mL) and HSV-2 (1.60×10^3 $TCID_{50}$/mL). All clinical samples were detected by the ***illumigene*** HSV 1&2 assay at LoD, or lower, except one HSV-1 sample, which was detected at 7.20×10^7 $TCID_{50}$/mL.

REPRODUCIBILITY

Reproducibility studies were carried out by three of the seven participating Clinical Sites. Blind-coded panels of eighteen (18) samples were supplied to participating laboratories. Samples were randomly sorted within each panel to mask sample identities. The panels included contrived HSV-1 (strain HF) and HSV-2 (strain MS) samples manufactured as moderate positive samples (HSV-1: 2.16×10^4 $TCID_{50}$/mL or HSV-2: 4.80×10^3 $TCID_{50}$/mL), low positive samples (HSV-1: 1.08×10^4 $TCID_{50}$/mL or HSV-2: 2.40×10^3 $TCID_{50}$/mL), or two high negative samples (HSV-1[a]: 308 $TCID_{50}$/mL, HSV-1[b]: 29.7 $TCID_{50}$/mL; HSV-2[a]: 24 $TCID_{50}$/mL, HSV-2[b]: 2.2 $TCID_{50}$/mL). The panel also included two HSV-1 and HSV-2 negative samples and a Positive and Negative Control. Testing was performed by different operators at each site on the same day (intra-assay variability) for five days (inter-assay variability). Three lots of ***illumigene*** HSV 1&2 and five ***illumipro-10*** instruments were used in this study. Positive and Negative Controls were tested with each panel. The results are provided in the table below:

Reproducibility Study Summary for HSV-1								
Sample Type	**Site 1**		**Site 2**		**Site 3**		**Total**	
	Percent Agreement		**Percent Agreement**		**Percent Agreement**		**Percent Agreement**	
HSV-1 Moderate Positive	30/30	100.0%	30/30	100.0%	30/30	100.0%	90/90	100.0%
HSV-1 Low Positive	30/30	100.0%	30/30	100.0%	30/30	100.0%	90/90	100.0%
HSV-1 & HSV-2 High Negative[a]	20/30	66.7%	26/30	86.7%	20/30	66.7%	66/90	73.3%
HSV-1 & HSV-2 High Negative[b]	29/30	96.7%	30/30	100.0%	29/30	96.7%	88/90	97.8%
HSV-1 Negative	60/60	100.0%	60/60	100.0%	60/60	100.0%	180/180	100.0%
Negative Control	10/10	100.0%	10/10	100.0%	10/10	100.0%	30/30	100.0%
Positive Control	10/10	100.0%	10/10	100.0%	10/10	100.0%	30/30	100.0%

Reproducibility Study Summary for HSV-2								
Sample Type	**Site 1**		**Site 2**		**Site 3**		**Total**	
	Percent Agreement		**Percent Agreement**		**Percent Agreement**		**Percent Agreement**	
HSV-2 Moderate Positive	30/30	100.0%	30/30	100.0%	30/30	100.0%	90/90	100.0%
HSV-2 Low Positive	30/30	100.0%	30/30	100.0%	30/30	100.0%	90/90	100.0%
HSV-1 & HSV-2 High Negative[a]	25/30	83.3%	29/30	96.7%	25/30	83.3%	79/90	87.8%
HSV-1 & HSV-2 High Negative[b]	29/30	96.7%	30/30	100.0%	29/30	96.7%	88/90	97.8%
HSV-2 Negative	60/60	100.0%	60/60	100.0%	60/60	100.0%	180/180	100.0%
Negative Control	10/10	100.0%	10/10	100.0%	10/10	100.0%	30/30	100.0%
Positive Control	10/10	100.0%	10/10	100.0%	10/10	100.0%	30/30	100.0%

CROSSREACTIVITY STUDIES

Crossreactivity studies employed positive (HSV-1 strain HF and HSV-2 strain MS) and negative specimens inoculated with bacterial or fungal organisms to a minimum concentration of 1.0×10^6 CFU/mL (1.0×10^6 copies/mL where genomic DNA was used) or virus at a minimum of 1.0×10^5 $TCID_{50}$/mL (1.0×10^6 copies/mL where genomic DNA or RNA was used). None of the following organisms or their genetic material reacted with ***illumigene*** HSV 1&2:

Acinetobacter calcoaceticus, Acinetobacter lwoffii, Bacteroides fragilis, Bordetella bronchiseptica, Bordetella pertussis, Candida albicans, Candida glabrata, Candida guilliermondii, Candida krusei, Candida lusitaniae, Candida parapsilosis, Candida tropicalis, Chlamydia trachomatis, Chlamydophila pneumoniae, Clostridium difficile, Clostridium perfringens, Corynebacterium diphtheriae, Enterobacter cloacae, Enterococcus faecalis, Enterococcus faecium, Escherichia coli (ESBL)*, Fusobacterium nucleatum, Gardnerella vaginalis, Haemophilus ducreyi, Haemophilus influenzae* (Type A)*, Klebsiella pneumoniae, Lactobacillus acidophilus, Legionella pneumophila, Mobiluncus curtisii, Mobiluncus mulieris, Moraxella catarrhalis, Mycoplasma hominis, Mycoplasma orale, Mycoplasma pneumoniae, Mycoplasma salivarium, Neisseria gonorrhoeae, Neisseria meningitidis, Prevotella melaninogenica, Proteus mirabilis, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella enteritidis, Salmonella typhimurium, Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus saprophyticus, Streptococcus agalactiae, Streptococcus mitis, Streptococcus mutans, Streptococcus pneumoniae, Streptococcus pyogenes, Streptococcus salivarius, Toxoplasma gondii, Treponema palladium, Trichomonas vaginalis, Ureaplasma urealyticum*, Adenovirus, Coronavirus, Coxsackievirus, Cytomegalovirus, Echovirus, Enterovirus, Epstein Barr virus, Influenza A virus, Influenza B virus, Hepatitis B virus, Hepatitis C virus, Human herpes 6 virus, Human herpes 7 virus, Human herpes 8 virus, Human immunodeficiency virus type 1, Human metapneumovirus, Human papilloma virus, Measles virus, Mumps virus, Parainfluenza virus, Respiratory syncytial virus, Rubella virus, Varicella zoster virus.

Human genomic DNA was nonreactive at 1.0 x 10^6 copies/mL. There was no competitive inhibition between HSV-1 and HSV-2 viruses in the ***illumi****gene* HSV 1&2 assay.

TESTS FOR INTERFERING SUBSTANCES
Interference testing was performed in the presence of worst-case concentrations of chemical and biological substances introduced directly into contrived positive (HSV-1 strains: McIntyre and HF; HSV-2 strains: G and MS) and negative samples. No interference was observed with the following substances:

(1) At concentrations of 7% w/v or v/v: Abreva® (10% Docosanol), Balneol® Hygienic Cleansing Lotion, Carmex® Original Lip Balm (1.7% camphor, 0.7% menthol), Desitin® (40% zinc oxide), Douche (CVS Pharmacy® Disposable), Fluoride toothpaste (Crest®, 0.243% sodium fluoride), K-Y® Brand Jelly, Lanacane® (0.2% benzethonium chloride, 20% benzocaine), Lip Clear® Lysine+® (1.2% zinc oxide), Miconazole 3 (CVS™ Yeast Infection Relief: 2% miconazole nitrate), Mouthwash (Listerine® Original: 0.092% eucalyptol, 0.042% menthol, 0.060% methyl salicylate, 0.064% thymol), Preparation H® Hemorrhoidal Ointment (14% mineral oil, 74.9% petrolatum, 0.25% phenylephrine HCl), Releev® (0.13% benzalkonium chloride), Tioconazole, Vagisil® Regular Strength (5% benzocaine, 2% resorcinol), Yeast Guard® Gel Treatment (Candida albicans, 27X HPUS; Candida parapsilosis, 27X HPUS; Pulsatilla, 27X HPUS), Feces, Seminal fluid, Urine, Whole blood.

(2) At concentrations of: 60 µg/mL – Mucus (Mucin, bovine submaxillary gland type I-S); 1.25 mg/mL – Cornstarch; 3.3 mg/mL – Albumin; 5 mg/mL – Acetaminophen, Casein, Chlorpheniramine maleate; 7 mg/mL – Acyclovir; 10 mg/mL – Acetylsalicylic acid, Dextromethorphan hydrobromide.

Casein at concentrations greater than 5 mg/mL was found to interfere with the assay.

Cold-EEZE® Cold Remedy plus Sore Throat (zincum gluconicum 2X) was tested at 7% v/v and produced invalid results in all replicates.

ITALIANO

illumigene®

HSV 1&2
DNA Amplification Assay

Test di amplificazione del DNA per il rilevamento del virus Herpes Simplex tipo 1 e del virus Herpes Simplex tipo 2

REF **280650** IVD **Dispositivo medico-diagnostico in vitro** **R_x Only**

FINALITÀ D'USO
Il test di amplificazione del DNA, ***illumi****gene* HSV 1&2, eseguito sull'***illumi****pro-10*™, è un test diagnostico in vitro qualitativo per il rilevamento diretto e la differenziazione del virus herpes simplex tipo 1 (HSV-1) e del virus herpes simplex tipo 2 (HSV-2) nei campioni raccolti da lesioni cutanee e mucocutanee.

Il test ***illumi****gene* HSV 1&2 utilizza la tecnologia LAMP (amplificazione isotermica del DNA mediata da loop) per rilevare HSV-1 e HSV-2 utilizzando come target i genomi del virus herpes simplex tipo 1 e del virus herpes simplex tipo 2. I risultati del test ***illumi****gene* HSV 1&2 vengono utilizzati come ausilio nella diagnosi dell'infezione da HSV in pazienti maschili e femminili sintomatici.

Il test ***illumi****gene* HSV 1&2 non è destinato a essere utilizzato con liquido cerebrospinale (CSF) o come ausilio nella diagnosi delle infezioni da HSV del sistema nervoso centrale (SNC). Il dispositivo non deve essere utilizzato per lo screening prenatale. Questo test è destinato all'uso nei laboratori ospedalieri, statali o di riferimento. Il dispositivo non è destinato all'uso presso punti di assistenza sanitaria diversi dai laboratori

SOMMARIO E SPIEGAZIONE DEL TEST
Il test ***illumi****gene* HSV 1&2 è basato sulla tecnologia LAMP (amplificazione mediata da loop).[1, 2] Il test identifica singolarmente le regioni dei genomi HSV-1 e HSV-2 in due distinti dispositivi del test. Il target HSV-1 è una sequenza di 208 paia di basi (bp) del gene della glicoproteina G (US4) di HSV-1. Il target HSV-2 è una sequenza di 189 paia di basi (bp) del gene della glicoproteina G (US4) di HSV-2.

L'amplificazione mediata da loop utilizza primer specificamente disegnati per ottenere la specifica e continua amplificazione isotermica del DNA. Un sottoprodotto del processo di amplificazione è il magnesio pirofosfato, che forma un precipitato bianco che rende torbida la soluzione di reazione. Le caratteristiche di assorbanza della soluzione di reazione vengono lette dallo strumento Meridian, l'Incubatore/Lettore ***illumi****pro-10*. I cambiamenti nelle caratteristiche di assorbenza della soluzione di reazione creata dalla precipitazione del magnesio pirofosfato indicano la presenza del DNA bersaglio. L'assenza di DNA bersaglio non determina un cambiamento significativo nell'assorbanza del campione.

Il kit ***illumi**gene* HSV 1&2 include il dispositivo di preparazione dei campioni III ***illumi**gene* (SMP PREP III), i dispositivi Test ***illumi**gene* HSV 1, i dispositivi Test ***illumi**gene* HSV 2, olio minerale, provette per trattamento termico e pipette di trasferimento da 50 µL. Il dispositivo ***illumi**gene* SMP PREP III, utilizzato per la diluizione e la preparazione dei campioni, include una soluzione tampone TRIS contenente DNA di *Staphylococcus aureus* in *E. coli* trattato con formalina. Il dispositivo Test ***illumi**gene* HSV 1 contiene un granulo di reagente di amplificazione liofilizzato in ognuna delle due camere: una camera TEST con primer specifici per HSV 1 e una camera CONTROLLO con primer specifici per *S. aureus*. Il dispositivo Test ***illumi**gene* HSV 2 contiene un granulo di reagente di amplificazione liofilizzato in ognuna delle due camere: una camera TEST con primer specifici per HSV 2 e una camera CONTROLLO con primer specifici per *S. aureus*. Il DNA di *S. aureus* nel dispositivo SMP PREP III e i primer specifici per *S. aureus* presenti nelle camere CONTROLLO dei dispositivi Test fungono da controllo interno del test. Durante la preparazione dei campioni, ciascun campione del paziente viene aggiunto al dispositivo SMP PREP III che contiene il controllo del test e viene combinato con il DNA di *S.aureus* prima dell'amplificazione. L'aggiunta del DNA di *S. aureus* al campione del paziente consente l'elaborazione parallela del DNA bersaglio e del DNA di controllo mediante amplificazione e rilevamento. Il controllo interno monitora l'inibizione dell'amplificazione, la prestazione del reagente del test e l'efficacia del processamento del campione. La sequenza target di controllo di *S aureus* deve essere amplificato e rilevato nella reazione finale, altrimenti il test è considerato non valido e i risultati non vengono refertati.

***illumi**pro-10* monitora le variazioni nelle caratteristiche di assorbanza misurando la trasmissione della luce attraverso le soluzioni di reazione contenute nelle provette Test e Controllo. La trasmissione della luce viene controllata all'inizio dell'esecuzione dell'analisi ($Signal_{initial}$, S_i) nonché alla fine ($Signal_{final}$, S_f). ***illumi**pro-10* calcola la variazione nella trasmissione della luce fra la fine e l'inizio dell'analisi (S_f:S_i) e confronta il rapporto con un valore stabilito di cut-off.

I valori stabiliti di cut-off per la provetta TEST sono utilizzati per refertare i risultati del campione. I rapporti S_f:S_i della provetta TEST inferiori all'82% sono refertati come "POSITIVI"; i rapporti S_f:S_i della provetta TEST superiori o pari all'82% sono refertati come "NEGATIVI". *I valori numerici non sono riportati.*

I valori stabiliti di cut-off per la provetta CONTROLLO sono utilizzati per determinare la validità. I rapporti S_f:S_i della provetta CONTROLLO inferiori al 90% sono considerati validi e consentono di refertare i risultati della provetta TEST (POSITIVO, NEGATIVO). I rapporti S_f:S_i della provetta CONTROLLO superiori o pari al 90% sono considerati non validi e impediscono di refertare i risultati della provetta TEST. Le reazioni della provetta CONTROLLO non valide sono riportate come "NON VALIDE". *I valori numerici non sono riportati.*

Per la reazione della provetta CONTROLLO valgono criteri di cut-off più rigorosi per garantire che l'amplificazione non sia inibita, i reagenti reagiscano come previsto e l'elaborazione del campione avvenga correttamente.

PRINCIPI BIOLOGICI

Il virus herpes simplex causa infezioni croniche, ricorrenti e meningite virale in adulti e bambini. L'infezione da virus herpes simplex tipo 1 (HSV-1) è relativamente diffusa, con una sieroprevalenza complessiva vicina al 54 % nella popolazione degli Stati Uniti.[3] Il virus herpes simplex tipo 2 (HSV-2) è la causa principale dell'herpes genitale. Si stima che 50 milioni di persone negli Stati Uniti e oltre 400 milioni di persone in tutto il mondo siano affette da herpes genitale HSV-2, ovvero circa 1 persona su 5.[4, 5] Sebbene tanto HSV-1 quanto HSV-2 siano in grado di provocare infezioni orali o genitali, solitamente HSV-1 è associato alle lesioni orali e HSV-2 a quelle genitali. Tuttavia, la frequenza dell'infezione genitale da HSV-1 è in aumento.[3, 6] È possibile che HSV venga trasmesso ai neonati durante il parto, provocando sintomi che vanno dalla patologia diffusa (SNC e organi interni) all'infezione di pelle, occhi e bocca.[7]

È possibile diagnosticare l'infezione da HSV utilizzando il microscopio, la coltura cellulare e i metodi molecolari e sierologici.[8] La coltura cellulare e PCR sono i metodi preferenziali consigliati dai Centri per il controllo delle malattie.[4] La sensibilità della coltura virale è bassa, soprattutto nelle lesioni ricorrenti o in fase di guarigione, a causa della quantità ridotta di virus vitale.[4] Non è possibile determinare il tipo di HSV direttamente con la coltura virale, e si rende quindi necessario l'impiego di metodi di tipizzazione aggiuntivi (quali ELVIS).[8] I metodi NAAT sono più sensibili rispetto alla coltura, sono in grado di distinguere i tipi di HSV e forniscono risultati rapidi.[8]

REAGENTI/MATERIALI FORNITI

Il numero massimo di analisi eseguibili con questo kit è indicato sulla confezione esterna.

1. ***Dispositivo di preparazione dei campioni III (SMP PREP III) illumi**gene*: soluzione con tampone Tris contenente DNA di *S. aureus* in *E. coli* trattato con formalina e sodio azide (0,09%) come conservante.
2. ***Dispositivo Test illumi**gene* **HSV 1:** dispositivo a due camere contenente i reagenti di amplificazione liofilizzati (DNA polimerasi, deossinucleotidi trifosfati) e i primer specifici per HSV-1 (camera TEST) o i primer specifici per *S. aureus* (camera CONTROLLO).
3. ***Dispositivo Test illumi**gene* **HSV 2:** dispositivo a due camere contenente i reagenti di amplificazione liofilizzati (DNA polimerasi, deossinucleotidi trifosfati) e i primer specifici per HSV- 2 (camera TEST) o i primer specifici per *S. aureus* (camera CONTROLLO)**. È possibile identificare visivamente il dispositivo Test *illumi**gene* HSV 2 mediante la fascia arancione presente sull'etichetta di chiusura del dispositivo Test.**
4. **Olio minerale** (flacone con puntale contagocce)
5. ***Provette per trattamento termico illumi**gene*
6. **Pipette di trasferimento**

MATERIALI FORNITI SEPARATAMENTE

Kit di controllo esterno ***illumi**gene* HSV 1&2, numero di catalogo: 279960

MATERIAL NON FORNITI

1. Guanti in lattice monouso, senza talco
2. Puntali per pipetta privi di DNase/RNase e resistenti alla contaminazione da aerosol
3. Mezzo di trasporto virale: MicroTest™ M4®, MicroTest™ M4RT®, MicroTest™ M6™, sistema di trasporto UniTranz-RT™, sistema di raccolta virus Copan UTM™, terreno di trasporto universale HealthLink® o terreno di trasporto analogo*, terreno di trasporto virale universale (UVT) BD, terreno di trasporto virale ViraTrans™ VTM, terreno di trasporto virale Hardy Diagnostics.
   **Il terreno di trasporto universale HealthLink è equivalente a Quest V-C-M Medium.*

STRUMENTI NON FORNITI

1. Blocco termostatico a secco di 12 mm in grado di arrivare a 95 C
2. Termometro digitale con registrazione della temperatura max/min (es., termometro impermeabile a prova d'urto Traceable® Lollipop™)
3. Vortex
4. Timer
5. Micropipetta in grado di dispensare 50 µL
6. ***illumi**pro-10™*, Meridian Bioscience, Inc. Numero di catalogo: 610172

PRECAUZIONI

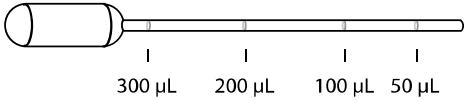
1. Tutti i reagenti sono esclusivamente per uso diagnostic in vitro.
2. I terreni di trasporto virali che contengono stabilizzatori delle proteine, quali MicroTest™ M5® e tamponi a base di alginato di calcio, non sono idonei alla raccolta e al trasporto dei campioni per il test ***illumi**gene* HSV 1&2.

3. Non scambiare i dispositivi di preparazione dei campioni o i dispositivi Test tra lotti diversi. L'olio minerale e le provette per il trattamento termico sono intercambiabili, a patto che non siano ancora scaduti quando vengono utilizzati.
4. Seguire il livello di biosicurezza 2 e le buone pratiche di laboratorio durante l'esecuzione dei test.[9] Trattare tutti i campioni e i dispositivi di analisi usati come capaci di trasmettere agenti infettivi. Non mangiare, bere o fumare in aree in cui vengono manipolati i campioni o i reagenti del kit.
5. Indossare guanti monouso per la manipolazione dei campioni e subito dopo lavarsi a fondo le mani.
6. Applicare i programmi di controllo qualità per i laboratori di analisi molecolari che comprendano impiego e manutenzione adeguati dell'apparecchiatura.[10]
7. Il dispositivo Test ***illumi****gene* HSV 1&2 contiene reagenti liofilizzati. Le buste protettive non devono essere aperte fino a quando non si è pronti a eseguire il test.
8. I dispositivi Test ***illumi****gene* HSV 1&2 comprendono un sistema di chiusura ideato per prevenire la contaminazione dell'area di lavoro con il prodotto di amplificazione. NON utilizzare dispositivi Test con linguette di chiusura rotte.
9. Smaltire i dispositivi Test ***illumi****gene* HSV 1&2 subito dopo l'uso, lasciando chiusa la linguetta del dispositivo. NON aprire il dispositivo Test dopo l'uso. L'apertura del dispositivo dopo l'amplificazione potrebbe comportare la contaminazione dell'area di lavoro con il prodotto di amplificazione.

DICHIARAZIONI DI PERICOLO E PRUDENZA
Per le nostre attuali conoscenze, non ci sono rischi associati a questo prodotto.

STABILITÁ E CONSERVAZIONE
La data di scadenza è riportata sull'etichetta del kit. Conservare il kit a 2-30 C.

NOTE PROCEDURALI
La pipetta di trasferimento inclusa nel kit ***illumi****gene* HSV 1&2 è confezionata singolarmente ed è in grado di dispensare 50 µL. La pipetta è illustrata nel disegno sottostante.



PREPARAZIONE DEI REAGENTI
Assicurarsi che i reagenti del kit siano a temperatura ambiente (19-30 C) prima dell'uso. Si potrebbero ottenere risultati non corretti se i reagenti non vengono portati a temperatura ambiente prima dell'uso.

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI
Tipo di campione: tamponi raccolti da lesioni umane cutanee e mucocutanee in terreni di trasporto virali. Sono idonei all'uso i seguenti mezzi di trasporto virali: MicroTest™ M4®, MicroTest™ M4RT®, MicroTest™ M6™, sistema di trasporto UniTranz-RT™, sistema di raccolta virus Copan UTM™, terreno di trasporto universale HealthLink® o terreno di trasporto analogo*, sistema di trasporto virale universale (UVT) BD, terreno di trasporto virale ViraTrans™ VTM, terreno di trasporto virale Hardy Diagnostics.
**Il terreno di trasporto universale HealthLink è equivalente a Quest V-C-M Medium.*

NOTA: i terreni di trasporto virali contenenti stabilizzatori delle proteine, ovvero, MicroTest™ M5® e tamponi a base di alginato di calcio, non sono tipi di campioni idonei all'uso.

Raccolta del campione: è opportuno eseguire la raccolta di campioni di lesioni cutanee e mucocutanee in conformità alle linee guida istituzionali relative alla raccolta di campioni clinici per infezione da virus herpes simplex.

Posizionare il(i) tampone(i) in un terreno di trasporto virale. In seguito alla raccolta e durante il trasporto in laboratorio, è opportuno conservare i campioni in frigorifero (temperatura compresa tra 2 e 8 C). È necessario analizzare i campioni quanto prima, anche se è possibile conservarli in frigorifero (tra 2 e 8 C) per un massimo di 7 giorni prima di eseguire l'analisi. Non congelare i campioni.

PREPARAZIONE DEI CAMPIONI
NOTA: assicurarsi che ***illumi****pro-10* sia acceso e che siano state completate le necessarie verifiche di funzionamento prima di dare inizio alla PREPARAZIONE DEI CAMPIONI. Consultare il Manuale d'uso di ***illumi****pro-10* per ulteriori informazioni sulla configurazione e sul funzionamento dello strumento.

NOTA: accertarsi che i campioni siano a temperatura ambiente (19-30 C) prima della preparazione.

1. Agitare il tampone raccolto nel terreno di trasporto per circa 45-60 secondi.
2. Utilizzando una pipetta di trasferimento, trasferire 50 µL del terreno di trasporto del tampone in un dispositivo ***illumi****gene* SMP PREP III. Gettare la pipetta di trasferimento. Etichettare il dispositivo SMP PREP con le informazioni identificative del campione.
3. Rimettere il cappuccio del dispositivo SMP PREP III e agitare su vortex per circa 10 secondi.
4. Rimuovere il tappo inferiore del dispositivo SMP PREP III e trasferire tutto il contenuto dell'apparato SMP PREP III in una provetta per il trattamento termico. Etichettare la provetta con le informazioni identificative del campione.
5. Ripetere i passaggi relativi alla PREPARAZIONE DEI CAMPIONI per tutti i campioni da analizzare. È possibile conservare i campioni analizzati per un massimo di 2 ore a temperatura ambiente (19-30 C) prima di procedere con il trattamento termico.
6. Riscaldare ciascuna provetta per il trattamento termico contenente il campione in un bagno a secco/blocco termostatico a 95 ± 5 C per 10 ± 2 minuti. Monitorare la fase del trattamento termico con il termometro digitale e il timer a intervalli.
7. Rimuovere ciascuna provetta per il trattamento termico dal bagno a secco/blocco termostatico. I campioni sottoposti a trattamento termico possono essere conservati a temperatura ambiente (19-30 C) per un massimo di 15 minuti prima di procedere con l'analisi.

NOTA: la quantità di campione preparata al termine della procedura di PREPARAZIONE DEI CAMPIONI è sufficiente per completare entrambi i test ***illumi****gene* HSV 1 e HSV 2.

PROCEDURA DEL TEST
NOTA: è possibile processare un massimo di 5 campioni per ciascun test HSV 1 e HSV 2 in un singolo ciclo ***illumi****pro-10*. **I dispositivi Test HSV 2 vengono identificati da una fascia arancione sull'etichetta di chiusura del dispositivo Test.**
1. Agitare con Vortex i campioni sottoposti a trattamento termico per circa 10 secondi.
2. Utilizzare 1 dispositivo Test ***illumi****gene* HSV 1 e 1 dispositivo Test ***illumi****gene* HSV 2 per campione. Rimuovere i dispositivi dalle rispettive buste protettive. Aprire con attenzione i dispositivi, tenendo le camere in maniera tale che i reagenti liofilizzati non fuoriescano all'apertura. Collocare i dispositivi su una superficie piana o su un portaprovette in grado di contenere i dispositivi.
3. Con una micropipetta, trasferire 50 µL di campione in entrambe le camere TEST (granulo bianco) e CONTROLLO (granulo giallo) dei dispositivi Test ***illumi****gene* HSV 1 e HSV 2. Fare attenzione a non introdurre aria nelle miscele di reazione.

4. Aggiungere 1 goccia di olio minerale in entrambe le camere TEST e CONTROLLO dei dispositivi Test ***illumi****gene* HSV 1 e HSV 2. Chiudere i dispositivi Test ***illumi****gene* e chiudere saldamente le linguette di chiusura.
5. Picchiettare ciascun dispositivo sul bancone o agitarlo per rimuovere le bolle d'aria. Esaminare attentamente il dispositivo Test per verificare la dissoluzione dei granuli di controllo/test e per escludere la presenza di bolle d'aria residue nella camera e di liquido nella parte superiore del dispositivo. Se si nota la presenza di granulo non disciolto, bolle d'aria o liquido nella parte superiore del dispositivo, picchiettare il dispositivo sul bancone e ripetere l'ispezione visiva. L'amplificazione e il rilevamento devono iniziare entro 15 minuti.
6. Ripetere i passaggi della PROCEDURA DEL TEST per tutti i campioni da analizzare.
7. Inserire i dispositivi Test ***illumi****gene* nell' ***illumi****pro-10* e iniziare la corsa. I risultati saranno visualizzati alla conclusione del ciclo.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

ID campione	Risultato riportato	Interpretazione
Campione del paziente	POSITIVO	**DISPOSITIVO TEST HSV 1:** il campione contiene il DNA bersaglio di HSV-1. **DISPOSITIVO TEST HSV 2:** il campione contiene il DNA bersaglio di HSV-2.
	NEGATIVO	**DISPOSITIVO TEST HSV 1:** nessun DNA bersaglio di HSV-1 rilevato. **DISPOSITIVO TEST HSV 2:** nessun DNA bersaglio di HSV-2 rilevato.
	NON VALIDO	**Nessun risultato refertabile. Ripetere il test utilizzando il campione del paziente originale.** Campione del paziente con effetto inibitorio, preparazione del campione non corretta, deterioramento del reagent, guasto dello strumento o fallimento del controllo interno.
Controllo positivo	POSITIVO	Risultato del controllo positive valido. Reagenti reattivi al momento dell'uso, ***illumi****pro-10* correttamente funzionante.
	NEGATIVO	**Risultato del controllo non corretto.** Ripetere il test di controllo come prima azione per la determinazione dell'insuccesso. Se i fallimenti deli controllo sono ripetuti contattare l'Assistenza tecnica Meridian al numero 1-800-343-3858 (USA) o il proprio distributore locale.
	NON VALIDO	**Nessun risultato refertabile.** Ripetere il test di controllo come prima azione per la determinazione dell'insuccesso. Se i fallimenti deli controllo sono ripetuti contattare l'Assistenza tecnica Meridian al numero 1-800-343-3858 (USA) o il proprio distributore locale. Preparazione del campione non corretta, deterioramento del reagente, guasto dello strumento o fallimento del controllo interno.
Controllo negativo	POSITIVO	**Risultato di controllo non corretto.** Ripetere il test di controllo come prima azione per la determinazione dell'insuccesso. Se i fallimenti deli controllo sono ripetuti contattare l'Assistenza tecnica Meridian al numero 1-800-343-3858 (USA) o il proprio distributore locale.
	NEGATIVO	Risultato del controllo negativo valido. Reagenti reattivi al momento dell'uso, ***illumi****pro-10* correttamente funzionante.
	NON VALIDO	**Nessun risultato refertabile.** Ripetere il test di controllo come prima azione per la determinazione dell'insuccesso. Se i fallimenti deli controllo sono ripetuti contattare l'Assistenza tecnica Meridian al numero 1-800-343-3858 (USA) o il proprio distributore locale. Preparazione del campione non corretta, deterioramento del reagente, guasto dello strumento o fallimento del controllo interno.
EMPTY WELL	NONE	Nessun dispositivo di analisi ***illumi****gene* nel pozzetto dell'***illumi****pro-10*. **OPPURE** Il dispositivo di analisi ***illumi****gene* presente è compromesso a causa di un errore nella preparazione del campione, dispositivo sporco o dispositivo non propriamente alloggiato. **Ripetere il test utilizzando il campione originale.**

CONTROLLO QUALITÀ

Il test va eseguito conformemente ai requisiti stabiliti dai competenti enti locali, statali, nazionali o dagli enti di accreditamento.

1. Ogni dispositivo contiene un controllo interno che controlla l'inibizione dell'amplificazione, i reagenti di analisi e l'efficacia del trattamento del campione. Il DNA del controllo interno è presente nel dispositivo SMP PREP III e viene elaborato attraverso tutte le fasi della procedura. I primer per l'amplificazione del DNA di controllo interno sono presenti nella camera di controllo del dispositivo Test ***illumi****gene* .
2. La fase del trattamento termico è monitorata con un termometro esterno e con un timer a intervalli. Utilizzare la registrazione della temperatura max/min del termometro per garantire il mantenimento di una temperatura di 95 ± 5 C. Utilizzare il timer a intervalli per garantire che la durata del trattamento termico sia di 10 ± 2 minuti.
3. La buona pratica di laboratorio raccomanda l'uso di materiali di controllo. Gli operatori devono attenersi alle linee guida federali, statali e locali pertinenti riguardanti l'esercizio dei controlli di qualità esterni.
4. **I reagenti di controllo esterni *illumi****gene* HSV 1&2 sono forniti separatamente (numero di catalogo: 279960). Si raccomanda di verificare la reattività di ciascun nuovo lotto e di ogni nuova spedizione di ***illumi****gene* HSV 1&2 al momento della ricezione e prima dell'uso. I test di controllo esterno possono essere eseguiti successivamente, in conformità con le appropriate linee guida regionali, statali e locali. Il kit del test ***illumi****gene* HSV 1&2 non va utilizzato per l'analisi dei pazienti se i controlli esterni non producono i risultati corretti
5. Occorre utilizzare un singolo dispositivo Test per ciascun reagente di controllo esterno.

VALORI ATTESI

La prevalenza di HSV-1 e HSV-2 è stata calcolata durante alcuni studi clinici condotti nel 2014-2015 in base all'età del paziente e a seconda della posizione anatomica della lesione. L'incidenza complessiva emersa dallo studio era del 24,2% (236/975) per HSV-1 e del 19,4% (224/1154) per HSV-2. I dati specifici sulla prevalenza sono riportati di seguito.

Studio combinato - Prevalenza cutanea a seconda della localizzazione anatomica del campione (N=306)						
Origine	**HSV 1**			**HSV 2**		
	N. totale	**Totale positivi**	**Prevalenza**	**N. totale**	**Totale positivi**	**Prevalenza**
Lesione cutanea	92	7	7,6%	92	28	30,4%
Area genitale (pene)	214	47	22,0%	214	27	12,6%
Studio combinato - Prevalenza mucocutanea a seconda della localizzazione anatomica del campione (N=852)						
Origine	**HSV-1**			**HSV-2**		
	N. totale	**Totale positivi**	**Prevalenza**	**N. totale**	**Totale positivi**	**Prevalenza**
Area ano-rettale	47 (1*)	7	14,9%	46 (2*)	9	19,6%
Area genitale (vagina/cervice)	624 (2*)	112	17,9%	626	158	25,2%
Area nasale	18	9	50,0%	18	0	0,0%
Area oculare	20	0	0,0%	20	0	0,0%
Lesione orale	135	53	39,3%	135	2	1,5%
Area uretrale	5	1	20,0%	5	0	0,0%

***** Numero di campioni che ha generato un risultato ***illumi****gene* non valido.

Studio combinato - Prevalenza cutanea a seconda dell'età (N=306)						
Età	**HSV-1**			**HSV-2**		
	N. totale	**Totale positivi**	**Prevalenza**	**N. totale**	**Totale positivi**	**Prevalenza**
≤ 5 anni	38	12	31,6%	38	1	2,6%
Da 6 a 12 anni	16	7	43,8%	16	1	6,3%
Da 12 a 22 anni	59	15	25,4%	59	9	15,3%
Da 22 a 59 anni	156	17	10,9%	156	31	19,9%
≥ 60 anni	37	3	8,1%	37	13	35,1%
Non indicata	0	0	0,0	0	0	0,0
Studio combinato - Prevalenza mucocutanea a seconda dell'età (N=852)						
Età	**HSV-1**			**HSV-2**		
	N. totale	**Totale positivi**	**Prevalenza**	**N. totale**	**Totale positivi**	**Prevalenza**
≤ 5 years	47	8	17,0%	47	0	0,0%
6 to 12 years	16	1	6,3%	16	0	0,0%
12 to 22 years	208 (1*)	58	27,9%	209	53	25,4%
22 to 59 years	512 (1*)	98	19,1%	513	105	20,5%
≥60 years	63 (1*)	17	27,0%	63 (1*)	11	17,5%
Not Provided	3	0	0,0%	2 (1*)	0	0,0%

***** Numero di campioni che ha generato un risultato ***illumi****gene* non valido.

LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

1. Le prestazioni del test ***illumi****gene* HSV 1&2 sono state determinate esclusivamente con campioni prospettici raccolti da lesioni cutanee e mucocutanee maschili e femminili. Non sono state determinate le prestazioni con altri tipi di campioni (campioni congelati o CSF).
2. Questo test non deve essere utilizzato per lo screening prenatale.
3. I farmaci che contengono il gluconato di zinco come principio attivo hanno generato risultati non validi se analizzati al 7% volume/volume con il test ***illumi****gene* HSV 1&2. La concentrazione di gluconato di zinco analizzata è eccessiva rispetto alla concentrazione prevista di gluconato di zinco presente nei campioni clinici; è stata omessa l'analisi di concentrazioni più basse. L'effetto del gluconato di zinco sui risultati del test ***illumi****gene* HSV 1&2 non è stato determinato utilizzando campioni clinici.
4. A concentrazioni superiori a 5 mg/mL la caseina ha interferito con il test ***illumi****gene* HSV 1&2.
5. Questo prodotto può essere usato esclusivamente con lo strumento ***illumi****pro-10*.

6. Il test ***illumi**gene* HSV 1&2 è un test qualitativo e non fornisce valori quantitativi né informazioni relative alla carica batterica dell'organismo.
7. Il rilevamento degli acidi nucleici dipende dall'adeguatezza delle procedure di prelievo, manipolazione, trasporto, conservazione e preparazione dei campioni. Il mancato rispetto della procedura appropriata per ciascuna di queste fasi può portare a risultati errati.
8. È possibile che l'acido nucleico degli organismi persista *in vivo* indipendentemente dalla vitalità degli organismi stessi. Il test ***illumi**gene* HSV 1&2 non distingue tra organismi vitali e non vitali.
9. Come per tutti i test diagnostici molecolari, (A) i risultati falsi negativi possono verificarsi in presenza di inibitori, errori tecnici, scambio di campioni o basso numero di organismi nel campione clinico, (B) i risultati falsi positivi possono verificarsi in presenza di contaminazione crociata da parte degli organismi bersaglio, dei rispettivi acidi nucleici o del prodotto di amplificazione, nonché da segnali aspecifici.

PRESTAZIONI SPECIFICHE

Le caratteristiche prestazionali del test di amplificazione del DNA ***illumi**gene* HSV 1&2 sono state definite nel corso di studi clinici condotti tra ottobre 2014 e marzo 2015 presso sette laboratori indipendenti che rappresentano quattro distinte regioni geografiche degli Stati Uniti. Le caratteristiche prestazionali del test sono state confrontate con il sistema del test di tipizzazione di riferimento ELVIS® HSV ID e D^3.

I campioni includevano tamponi raccolti da lesioni cutanee e mucocutanee di pazienti con sospetta infezione da virus herpes simplex tipo 1 (HSV-1) o tipo 2 (HSV-2). I campioni classificati come cutanei includevano lesioni della pelle e dei genitali – pene. I campioni classificati come mucocutanei sono stati raccolti nelle seguenti aree: ano-rettale, genitale (vagina/cervice), nasale, oculare, orale e uretrale.

In tutto, sono stati analizzati 1158 tamponi idonei, residui, anonimi, raccolti da lesioni di pazienti maschili e femminili sintomatici. I campioni sono stati raccolti da pazienti di età compresa tra 1 giorno e 89 anni. In tutto, sono stati analizzati 723 (74,3%) campioni femminili e 247 (25,3%) campioni maschili di HSV-1, e 871 (75,5%) campioni femminili e 277 (24,0%) campioni maschili di HSV-2. Erano presenti anche quattro (4) campioni di HSV-1 (0,4%) e cinque (5) campioni di HSV-2 (0,4%) di sesso sconosciuto. Non si prevedono differenze nelle prestazioni del test in base al sesso.

Un campione è risultato positivo all'HSV secondo ELVIS, tuttavia, non è stato possibile identificarlo come HSV-1 o HSV-2 (indeterminato) e non è stato incluso nell'analisi delle prestazioni. Un campione è stato analizzato con cellule ELVIS contaminate e non è stato in grado di generare un risultato (indeterminato). Il sistema del test di tipizzazione ELVIS HSV ID e D^3 non è in grado di rilevare HSV-1 se, HSV-2 è stato identificato in precedenza in campioni co-infetti. Pertanto, se un campione è risultato positivo all'HSV-2 secondo ELVIS, è stato rimosso dal calcolo dell'analisi delle prestazioni di HSV-1. Sono risultati positivi all'HSV-2 centosettantanove (179) campioni secondo ELVIS che sono stati rimossi dall'analisi dei dati di HSV-1. Due campioni sono risultati positivi sia a HSV-1 che a HSV-2 secondo il test ***illumi**gene* e sono stati esclusi dalle analisi delle prestazioni di HSV-1 e HSV-2. Le tabelle seguenti indicano le prestazioni dei restanti 975 campioni di HSV-1 e dei 1154 campioni di HSV-2 per tutte le aree combinate.

Aree combinate: HSV-1 cutaneo (N=264)

		Metodo di riferimento				Prestazioni			95% CI
		Pos	**Neg**	**Totale**	**INV**				
***illumi**gene* HSV 1&2	**Pos**	48	6[a]	54	0	**Sens**	48/51	94,1%	84,1-98,0%
	Neg	3[b]	207	210	0	**Spec**	207/213	97,2%	94,0-98,7%
	Totale	51	213	264	0				

[a] 6/6 campioni sono risultati positivi a HSV-1 con un altro test molecolare, approvato FDA.
[b] 1/3 campione è risultato negativo a HSV-1 con un altro test molecolare, approvato FDA.

Aree combinate: HSV-1 mucocutaneo (N=710)

		Metodo di riferimento				Prestazioni			95% CI
		Pos	**Neg**	**Totale**	**INV[a]**				
***illumi**gene* HSV 1&2	**Pos**	152	28[b]	180	0 (1)	**Sens**	152/160	95,0%	90,4-97,4%
	Neg	8[c]	522	530	2 (8)	**Spec**	522/550	94,9%	92,7-96,5%
	Totale	160	551	710	9				

[a] 6/9 campioni inizialmente non validi hanno generato risultati positivi o negativi validi in test ripetuti; 2 su 9 non sono stati analizzati di nuovo. Uno è risultato indeterminato al test ELVIS.
[b] 19/28 campioni sono risultati positivi a HSV-1 con un altro test molecolare, approvato FDA; non è stato possibile analizzare 3 campioni.
[c] 7/8 campioni sono risultati negativi a HSV-1 con un altro test molecolare, approvato FDA; non è stato possibile analizzare 1 campione.

Aree combinate: HSV-2 cutaneo (N=306)

		Metodo di riferimento				Prestazioni			95% CI
		Pos	**Neg**	**Totale**	**INV[a]**				
***illumi**gene* HSV 1&2	**Pos**	42	13[b]	55	0	**Sens**	42/42	100%	91,6-100,0%
	Neg	0	251	251	0 (1)	**Spec**	251/264	95,1%	91,8-97,1%
	Totale	42	264	306	1				

[a] 1 campione inizialmente non valido, ripetuto è risultato negativo.
[b] 8/13 campioni sono risultati positivi a HSV-2 con un altro test molecolare, approvato FDA; non è stato possibile analizzare 1 campione.

Aree combinate: HSV-2 mucocutaneo (N=847)

		Metodo di riferimento				Prestazioni			95% CI
		Pos	**Neg**	**Totale**	**INV[a]**				
***illumi**gene* HSV 1&2	**Pos**	135	31[b]	166	0	**Sens**	135/137	98,5%	94,8-99,6%
	Neg	2[c]	679	681	2 (3)	**Spec**	679/710	95,6%	93,9-96,9%
	Totale	137	710	847	3				

[a] 1/3 risultato inizialmente non valido, ripetuto è risultato negativo.
[b] 24/31 campioni sono risultati positivi a HSV-2 con un altro test molecolare, approvato FDA; non è stato possibile analizzare 4 campioni.
[c] 1/2 campioni è risultato negativo a HSV-2 con un altro test molecolare, approvato FDA.

SENSIBILITÀ ANALITICA
La sensibilità analitica o il limite di rilevamento (LoD) è stato determinato utilizzando due ceppi, uno di HSV-1 e uno di HSV-2. Il LoD è stato determinato utilizzando 60 repliche e una probabilità dichiarata (ad es., 95%, dove 57/60 repliche sono positive) di ottenere risposte positive.

HSV Strain	**$TCID_{50}$/mL**
HSV-1 HF (VR-260)	$7{,}20 \times 10^3$
HSV-1 McIntyre (VR-539)	$9{,}89 \times 10^4$
HSV-2 G (VR-734)	$1{,}20 \times 10^3$
HSV-2 MS (VR-540)	$1{,}60 \times 10^3$

Il LoD assegnato finale del test è di $9{,}89 \times 10^4$ $TCID_{50}$/mL per HSV-1 e $1{,}60 \times 10^3$ $TCID_{50}$/mL per HSV-2.

Inoltre, venti (20) campioni clinici di HSV-1 e venti (20) campioni clinici di HSV-2 provenienti da una vasta gamma di localizzazioni anatomiche (ovvero, orale, genitale, ano-rettale ecc.) sono stati valutati con un LoD del test per HSV-1 ($9{,}89 \times 10^4$ $TCID_{50}$/mL) e per HSV-2 ($1{,}60 \times 10^3$ $TCID_{50}$/mL). Tutti i campioni clinici sono stati rilevati dal test ***illumi**gene* HSV 1&2 al LoD, o inferiore, ad eccezione di un campione di HSV-1 che è stato rilevato a $7{,}20 \times 10^7$ $TCID_{50}$/mL.

RIPRODUCIBILITÀ
Gli studi di riproducibilità sono stati eseguiti da tre dei sette laboratori partecipanti. A questi laboratori partecipanti sono stati forniti pannelli in cieco di diciotto (18) campioni codificati. I campioni sono stati ordinati casualmente all'interno di ciascun pannello per mascherare le identità dei campioni. I pannelli includevano campioni artificiali di HSV-1 (ceppo HF) e HSV-2 (ceppo MS) prodotti come campioni positivi moderati (HSV-1: $2{,}16 \times 10^4$ $TCID_{50}$/mL o HSV-2: $4{,}80 \times 10^3$ $TCID_{50}$/mL), campioni positivi bassi (HSV-1: $1{,}08 \times 10^4$ $TCID_{50}$/mL o HSV-2: $2{,}40 \times 10^3$ $TCID_{50}$/mL) o due campioni negativi alti (HSV-1[a]: 308 $TCID_{50}$/mL, HSV-1[b]: 29,7 $TCID_{50}$/mL; HSV-2[a]: 24 $TCID_{50}$/mL, HSV-2[b]: 2,2 $TCID_{50}$/mL). Il pannello includeva anche due campioni negativi di HSV-1 e HSV-2 e un controllo positivo e negativo. L'analisi è stata condotta da diversi operatori in ciascun laboratorio lo stesso giorno (variabilità intra-analisi) per cinque giorni (variabilità inter-analisi). Tre lotti di test ***illumi**gene* HSV 1&2 e cinque strumenti ***illumi**pro-10* sono stati utilizzati in questo studio. I controlli positivi e negativi sono stati analizzati con ciascun pannello. I risultati sono illustrati nella tabella seguente:

Riepilogo dello studio di riproducibilità per HSV-1								
Tipo di campione	**Laboratorio 1**		**Laboratorio 2**		**Laboratorio 3**		**Totale**	
	Percentuale di concordanza		**Percentuale di concordanza**		**Percentuale di concordanza**		**Percentuale di concordanza**	
HSV-1 Positivo Moderato	30/30	100,0%	30/30	100,0%	30/30	100,0%	90/90	100,0%
HSV-1 Basso Positivo	30/30	100,0%	30/30	100,0%	30/30	100,0%	90/90	100,0%
HSV-1 & HSV-2 Alto Negativo	20/30	66,7%	26/30	86,7%	20/30	66,7%	66/90	73,3%
HSV-1 & HSV-2 Alto Negativo	29/30	96,7%	30/30	100,0%	29/30	96,7%	88/90	97,8%
HSV-1 Negativo	60/60	100,0%	60/60	100,0%	60/60	100,0%	180/180	100,0%
Controllo Negativo	10/10	100,0%	10/10	100,0%	10/10	100,0%	30/30	100,0%
Controllo Positivo	10/10	100,0%	10/10	100,0%	10/10	100,0%	30/30	100,0%

Riepilogo dello studio di riproducibilità per HSV-2								
Tipo di campione	**Laboratorio 1**		**Laboratorio 2**		**Laboratorio 3**		**Totale**	
	Percentuale di concordanza		**Percentuale di concordanza**		**Percentuale di concordanza**		**Percentuale di concordanza**	
HSV-2 Positivo Moderato	30/30	100,0%	30/30	100,0%	30/30	100,0%	90/90	100,0%
HSV-2 Basso Positivo	30/30	100,0%	30/30	100,0%	30/30	100,0%	90/90	100,0%
HSV-1 & HSV-2 Alto Negativo	25/30	83,3%	29/30	96,7%	25/30	83,3%	79/90	87,8%
HSV-1 & HSV-2 Alto Negativo	29/30	96,7%	30/30	100,0%	29/30	96,7%	88/90	97,8%
HSV-2 Negativo	60/60	100,0%	60/60	100,0%	60/60	100,0%	180/180	100,0%
Controllo Negativo	10/10	100,0%	10/10	100,0%	10/10	100,0%	30/30	100,0%
Controllo Positivo	10/10	100,0%	10/10	100,0%	10/10	100,0%	30/30	100,0%

STUDI SULLA CROSS-REATTIVITÀ
Negli studi di crossreattività sono stati impiegati campioni positivi (HSV-1 ceppo HF e HSV-2 ceppo MS) e negativi inoculati con batteri o funghi a una concentrazione minima di 1,0 x 10^6 CFU/mL (1,0 x 10^6 copie/mL dove è stato utilizzato il DNA genomico) o con virus a una concentrazione minima di 1,0 x 10^5 $TCID_{50}$/mL (1,0 x 10^6 copie/mL dove è stato utilizzato il DNA o l'RNA genomico). Nessuno dei seguenti orga nismi o dei relativi materiali genetici ha reagito con il test ***illumi****gene* HSV 1&2.

Adenovirus, Coronavirus, Coxsackievirus, Cytomegalovirus, Echovirus, Enterovirus, Epstein Barr virus, Influenza A virus, Influenza B virus, Hepatitis B virus, Hepatitis C virus, Herpesvirus umano 6, Herpesvirus umano 7, Herpesvirus umano 8, HIV tipo 1, metapneumovirus umano, papilloma virus umano, virus del morbillo, virus degli orecchioni, virus della parainfluenza, virus respiratorio sinciziale, virus Rubella, virus Varicella zoster.

Il DNA genomico umano non ha reagito a 1,0 x 10^6 copie/mL. Non si è verificata nessuna inibizione competitiva tra i virus HSV-1 e HSV-2 nel test ***illumi****gene* HSV 1&2.

ANALISI DI SOSTANZE INTERFERENTI
Il test sull'interferenza è stato condotto in presenza delle concentrazioni peggiori di sostante chimiche e biologiche introdotte direttamente nei campioni positivi prodotti artificialmente (HSV-1 ceppi: McIntyre e HF; HSV-2 ceppi: G e MS) e nei campioni negativi. Non sono state osservate interferenze con le sostanze riportate di seguito.

1) A concentrazioni del 7% peso/volume o volume/volume: Abreva® (10% docosanolo), Balneol® lozione detergente, Carmex® balsamo labbra (1,7% canfora, 0,7% mentolo), Desitin® (40% ossido di zinco), lavanda vaginale (CVS Pharmacy® monouso), dentifricio al fluoro (Crest®, 0,243% fluoruro di sodio), K-Y® Brand Jelly, Lanacane® (0,2% cloruro di benzetonio, 20% benzocaina), Lip Clear® Lysine+® (1,2% ossido di zinco), Miconazolo 3 (rimedio per infezione da lievito CVS™: 2% miconazolo nitrato), colluttorio (Listerine® Original: 0,092% eucaliptolo, 0,042% mentolo, 0,060% metil salicilato, 0,064% timolo), Preparation H® pomata emorroidale (14% olio minerale, 74,9% petrolato, 0,25% fenilefrina HCl), Releev® (0,13% cloruro di benzalconio), Tioconazolo, Vagisil® Regular Strength (5% benzocaina, 2% resorcinolo), Yeast Guard® Trattamento Gel (Candida albicans, 27X HPUS; Candida parapsilosis, 27X HPUS; Pulsatilla, 27X HPUS), feci, liquido seminale, urina, sangue intero.
(2) A concentrazioni di: 60 µg/mL - Muco (mucina, ghiandola sottomandibolare bovina di tipo I-S); 1,25 mg/mL - Amido di mais; 3,3 mg/mL - Albumina; 5 mg/mL - Acetaminofene, caseina, clorfeniramina maleato; 7 mg/mL - Aciclovir; 10 mg/mL - Acido acetilsalicilico, destrometorfano bromidrato.

La caseina a concentrazioni superiori a 5 mg/mL ha interferito con il test.

Cold-EEZE® rimedio per raffreddore e mal di gola (gluconato di zinco 2X) è stato analizzato a una concentrazione del 7% volume/volume e ha generato risultati non validi in tutte le repliche.

FRANÇAIS

illumigene®

HSV 1&2
DNA Amplification Assay

Test d'amplification d'ADN pour la détection du virus herpès simplex de type 1 et de type 2

REF 280650 IVD Dispositif médical de diagnostic in vitro R_x Only

BUT DE LA METHODE
Le test ***illumi****gene* HSV 1&2 par amplification d'ADN, effectué sur ***illumi****pro-10*™, est un test de diagnostic in vitro qualitatif pour la détection et la différenciation du virus herpès simplex de type 1 (HSV-1) et du virus herpès simplex type 2 (HSV-2) dans des échantillons de lésion cutanée et cutanéomuqueuse.

Le test ***illumi****gene* HSV 1&2 utilise la technique d'amplification isotherme de l'ADN facilitée par boucle (en anglais, loop-mediated isothermal DNA amplification ou LAMP) pour détecter HSV-1 et HSV-2 en ciblant des segments des génomes du virus herpes simplex 1 et herpes simplex 2. Les résultats du test d'***illumi****gene* HSV 1&2 servent à diagnostiquer une infection par HSV chez les patients masculins et féminins symptomatiques.

illumi*gene* HSV 1&2 n'est pas conçu pour être utilisé avec le liquide céphalorachidien (LCR) ni pour aider au diagnostic des infections HSV du système nerveux central (SNC). Le dispositif n'est pas prévu pour le dépistage prénatal. Ce test est destiné à une utilisation en milieu hospitalier, comme référence ou dans les laboratoires d'état. Le dispositif n'est pas prévu pour une utilisation dans une unité de soins hors laboratoire.

RESUME ET EXPLICATION DU TEST
Le test ***illumi****gene* HSV 1&2 est basé sur la technologie d'amplification génique isotherme (LAMP).[1, 2] Le test cible individuellement des régions des génomes HSV 1 et HSV 2 dans deux dispositifs de test séparés. La cible de HSV-1 est une séquence de 208 paires de bases (pb) du gène de la glycoprotéine G (US4) de HSV-1. La cible de HSV-2 est une séquence de 189 pb du gène de la glycoprotéine G (US4) de HSV-2.

L'amplification génique isotherme utilise des amorces conçues spécialement pour fournir une amplification isotherme continue de l'ADN. Le pyrophosphate de magnésium est un produit secondaire de cette amplification, et forme un précipité blanc qui trouble la solution de réaction. Les caractéristiques d'absorbance de la solution de réaction sont suivies par l'instrument ***illumi****pro-10* Incubateur/Lecteur de Meridian. La présence de l'ADN cible est signalée par la modification des caractéristiques d'absorbance de la solution de réaction en raison de la précipitation du pyrophosphate de magnésium. En l'absence de l'ADN cible, aucune modification significative de l'absorbance de l'échantillon n'est observée.

Le kit ***illumi****gene* HSV 1&2 comprend un système de préparation des échantillons III (SMP PREP III) ***illumi****gene*, des dispositifs de test ***illumi****gene* HSV 1, des dispositifs de test ***illumi****gene* HSV 2, de l'huile minérale, des tubes de traitement thermique et une pipette de transfert de 50 µL. Le nécessaire de préparation de l'échantillon ***illumi****gene* SMP PREP III, utilisé pour la dilution et la préparation de l'échantillon, comprend une solution tamponnée Tris contenant des *E. coli* traités au formaldéhyde et contenant de l'ADN de *Staphylococcus aureus*. Le dispositif de test ***illumi****gene* HSV 1 contient une bille de réactif d'amplification lyophilisé dans chacun des deux puits: un puits de TEST avec des amorces spécifiques à HSV1 et un puits de CONTROLE avec des amorces spécifiques à *S. aureus*. Le dispositif de test ***illumi****gene* HSV 2 contient une bille de réactif d'amplification lyophilisé dans chacun des deux puitss: un puits de TEST avec des amorces spécifiques à HSV2 et unpuits de CONTROLE avec des amorces spécifiques à *S. aureus*. L'ADN de *S. aureus* du système de préparation de l'échantillon et les amorces spécifiques à *S. aureus* du puits de CONTROLE servent de contrôle interne du test. Au cours de la préparation des spécimens, chaque échantillon de patient est ajouté au système de préparation SMP PREP III contenant le contrôle de dosage et l'ADN de *S. aureus* avant amplification. L'ajout d'ADN de *S. aureus* à l'échantillon d'un patient permet de traiter en parallèle l'ADN cible et l'ADN de contrôle au cours de l'amplification et de la détection. Le contrôle interne permet de déceler un problème d'inhibition de l'amplification et d'efficacité des réactifs du test ou du traitement des échantillons. La cible de contrôle de *S. aureus* doit être amplifiée et détectée dans la réaction finale. Dans le cas contraire, le test est considéré comme étant non valide et les résultats ne sont pas reportés.

L'instrument ***illumi****pro-10* suit les modifications des caractéristiques d'absorbance en mesurant la transmission de la lumière à travers les solutions de réaction de TEST et de CONTROLE. La transmission de la lumière est contrôlée au début ($Signal_{initial}$, S_i) et à la fin ($Signal_{final}$, S_f) du processus d'amplification. L'***illumi****pro-10* calcule la variation de la transmission de la lumière entre le début et la fin de du processus d'amplification (S_f:S_i) et il compare le rapport à une valeur seuil prédéfinie.

Des valeurs seuil prédéfinies pour le puits TEST sont utilisées pour présenter les résultats des échantillons. Les rapports S_f:S_i inférieurs à 82% dans le puits TEST sont présentés comme résultat «POSITIF»; les rapports S_f:S_i supérieurs ou égaux à 82% dansle puits TEST sont présentés comme résultat «NEGATIF». *Les valeurs numériques ne sont pas présentées.*

Des valeurs seuil prédéfinies pour lle puits CONTROLE sont utilisées pour déterminer la validité du test. Les rapports S_f:S_i inférieurs à 90% dans le puits CONTROLE sont considérés comme valides et conduisent au rendu des résultats du puits TEST (POSITIF, NEGATIF). Les rapports S_f:S_i supérieurs ou égaux à 90% dans le puits CONTROLE sont considérés comme non valides et empêchent le rendu des résultats pour le puits TEST. Les réactions non valides du puits CONTROLE sont présentées comme résultat «NON VALIDE». *Les valeurs numériques ne sont pas présentées.*

Des critères d'exclusion plus sévères sont appliqués à la réaction du puits CONTROLE pour s'assurer que l'amplification n'est pas inhibée, que les réactifs fonctionnent comme prévu et que l'échantillon a été traité de manière appropriée.

PRINCIPE DU TEST

Le virus herpes simplex provoque des infections chroniques récurrentes et une méningite virale chez les adultes et les enfants. L'infection par le virus herpès simplex de type 1 (HSV-1) est relativement courante, avec une séroprévalence globale approchant les 54% de la population des Etats-Unis.[3] Le virus herpes simplex de type 2 (HSV-2) est la cause principale de l'herpès génital. On estime que 50 millions de personnes aux Etats-Unis et plus de 400 millions de personnes dans le monde sont infectées par l'herpès génital HSV-2, soit environ 1 personne sur 5.[4, 5] Bien que HSV-1 ou HSV-2 puissent provoquer des infections orales ou génitales, HSV-1 est généralement associé aux lésions orales et HSV-2 est généralement associé aux lésions génitales. Toutefois, la fréquence des infections génitales à HSV-1 ne cesse d'augmenter.[3, 6] La transmission de HSV aux nouveau-nés peut survenir pendant la naissance, provoquant des symptômes allant d'une maladie disséminée (SNC et organes viscéraux) aux infections de la peau, de l'œil et de la bouche.[7]

L'infection à HSV peut être diagnostiquée par microscopie, culture cellulaire, méthodes moléculaires et sérologiques;[8] la culture cellulaire et la PCR sont les méthodes de diagnostic recommandées par les CDC (Centers of Disease Control) [4] La sensibilité de la culture virale est faible, notamment pour les lésions récurrentes ou en voie de guérison, du fait de la quantité limitée de virus viables.[4] Le type HSV ne peut être déterminé directement à partir de la culture virale, nécessitant des méthodes de typage complémentaires (telles que ELVIS).[8] Les méthodes NAAT sont plus sensibles que la culture, permettant de différencier les divers types de HSV, et offrent des résultats rapides.[8]

MATERIEL FOURNI

Le nombre maximal de tests pouvant être réalizés à partir de ce coffret est indique sur la boite.

1. ***Système de préparation des échantillons III (SMP PREP III) illumigene*:** solution tamponnée Tris contenant des *E. coli* traités au formaldéhyde et contenant de l'ADN de *S. aureus* ainsi que de l'azide de sodium (0,09 %) comme agent de conservation.
2. ***Dispositif de test illumigene HSV 1*:** un dispositif à deux puits contenant des réactifs d'amplification lyophilisés (ADN polymérase, désoxynucléotide triphosphates) et, soit des amorces spécifiques de HSV-1 (Puits TEST), soit des amorces spécifiques de *S. aureus* (Puits CONTROLE)**.**
3. ***Dispositif de test illumigene* HSV 2:** un dispositif à deux puits contenant des réactifs d'amplification lyophilisés (ADN polymérase, désoxynucléotide triphosphates) et, soit des amorces spécifiques de HSV-2 (Puits TEST), soit des amorces spécifiques de *S. aureus* (Puits CONTROLE)**. Le dispositif de test *illumigene* HSV 2 est identifié visuellement par une bande orange sur la languette de fermeture du dispositif.**
4. **Huile minérale** (conditionnée dans un flacon avec embout compte-gouttes)
5. **Tubes pour le traitement thermique (TT) *illumigene***
6. **Pipettes de transfert**

MATERIEL FOURNI SEPAREMENT

Kit de contrôle externe ***illumigene*** pour HSV 1&2, numéro de référence: 279960

MATERIEL NON FOURNI

1. Gants en latex jetables, non poudrés
2. Embouts de pipettes résistant aux aérosols, sans ADNase/ARNase
3. Milieu de transport viral: MicroTest™ M4®, MicroTest™ M4RT®, MicroTest™ M6™, système de transport UniTranz-RT™, Copan UTM™ Virus Collection, milieu de transport HealthLink® UTM ou identique*, milieu de transport viral universel (UVT) de BD, ViraTrans™ VTM, Hardy Diagnostics VTM.
   **HealthLink UTM est équivalent à Quest V-C-M Medium*

EQUIPEMENT NON FOURNI

1. Bloc chauffant pour microtubes de 12 mm, pouvant atteindre 95 C
2. Thermomètre numérique avec mémoire de température maximale/minimale (par ex., thermomètre étanche/antichoc Traceable® Lollipop™)
3. Agitateur-mélangeur Vortex
4. Minuteur
5. Micropipette d'une contenance de 50 µL
6. ***illumipro-10,*** Meridian Bioscience, Inc. Numéro de référence: 610172

PRECAUTIONS D'EMPLOI

1. Tous les reactifs sont pour un usage diagnostique in vitro
2. Les milieux de transport viral contenant des stabilisateurs de protéines, tels que MicroTest™ M5® et des écouvillons à l'alginate de calcium, ne sont pas acceptables pour le prélèvement et le transport d'échantillons HSV 1&2 ***illumigene***.
3. Ne pas intervertir les lots des systèmes de préparation des échantillons ou des dispositifs de test L'huile minérale et les tubes pour le traitement thermique sont interchangeables à condition de respecter les dates limites de péremption indiquées au moment de leur utilisation.
4. Suivre les consignes de sécurité biologique de niveau 2 et les bonnes pratiques de laboratoire pendant les tests.[9] Traiter tous les spécimens et dispositifs de test usagés comme susceptibles de transmettre des agents infectieux. Ne pas manger, boire ou fumer dans les espaces où les échantillons ou les réactifs du kit sont manipulés.
5. Porter des gants jetables lors de la manipulation des échantillons. S e laver minutieusement les mains après la manipulation.
6. Les programmes de contrôle de la qualité pour les laboratoires de diagnostic moléculaire, y compris la bonne utilisation et l'entretien de l'équipement, doivent être suivis.[10]
7. Les dispositifs de test ***illumigene*** HSV 1&2 contiennent des réactifs lyophilisés. Ne pas ouvrir les pochettes de protection avant d'être prêt à effectuer le test.
8. Les dispositifs de test ***illumigene*** HSV 1&2 sont munis d'un loquet conçu pour éviter la contamination de la zone de test avec le produit d'amplification. NE PAS utiliser les dispositifs de test dont le loquet est brisé.
9. Jeter les dispositifs de test ***Ilumigene*** HSV 1&2 utilisés immédiatement après le test en laissant le loquet bien en place. NE PAS ouvrir le dispositif de test après le traitement. L'ouverture du dispositif après amplification peut contaminer la zone de test avec le produit d'amplification.

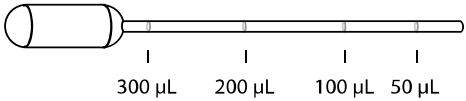
DANGER ET MISES EN GARDE

A notre connaissance, il n'y pas de risque connu associé à ce produit.

DUREE DE CONSERVATION ET STOCKAGE

La date de péremption figure sur l'étiquette du kit. Conserver le kit à une température comprise entre 2 C et 30 C.

REMARQUES SUR LA PROCEDURE
La pipette de transfert incluse dans le kit ***illumi****gene* HSV 1&2 est emballée séparément et peut distribuer jusqu'à 50 µL. La pipette est représentée ci-dessous.



PREPARATION DES REACTIFS
S'assurer que les réactifs du kit sont à la température ambiante (19 C à 30 C) avant leur emploi. Si les réactifs ne sont pas amenés à la température ambiante avant l'emploi, des résultats incorrects pourraient être observés.

PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS
Type d'échantillon: prélèvements sur écouvillon de lésions humaines cutanées et cutanéo-muqueuses en milieux de transport viral. L'utilisation des milieux de transport viral suivants est acceptable: MicroTest™ M4®, MicroTest™ M4RT®, MicroTest™ M6™, système de transport UniTranz-RT™, Copan UTM™ Virus Collection, milieu de transport HealthLink® UTM ou identique*, milieu de transport viral universel (UVT) BD, ViraTrans™ VTM, Hardy Diagnostics VTM.
**HealthLink UTM est équivalent à Quest V-C-M Medium*

REMARQUE: Les milieux de transport viral contenant des stabilisateurs de protéine, tels que MicroTest™ M5® et des écouvillons à l'alginate de calcium, ne sont pas des types d'échantillon acceptables.

Prélèvement de l'échantillon: Le prélèvement des échantillons de lésion cutanée et cutanéo-muqueuse doit être effectué conformément aux directives de l'établissement pour le prélèvement des échantillons cliniques pour l'infection à herpes simplex virus.

Placez le ou les écouvillon(s) dans un milieu de transport viral. Les échantillons doivent être stockés au réfrigérateur (entre 2 et 8 C) après prélèvement et pendant le transport jusqu'au laboratoire. Les échantillons doivent être testés dès que possible, mais peuvent être conservés au réfrigérateur (entre 2 et 8 C) pendant 7 jours maximum avant d'être testés. Ne pas congeler les échantillons

PREPARATION DES SPECIMENS
REMARQUE: s'assurer que l'instrument ***illumi****pro-10* est sous tension et que les vérifications de performances ont été effectuées avant le début de la PRÉPARATION DES SPÉCIMENS. Consulter le manuel de l'utilisateur de l'***illumi****pro-10* pour obtenir de plus amples renseignements sur l'installation et le fonctionnement de l'appareil.

REMARQUE: S'assurer que les échantillons sont à température ambiante (19-30 C) avant la préparation des échantillons.

1. Passer au Vortex l'écouvillonnage préservé dans le milieu de transport pendant environ 45 à 60 secondes.
2. A l'aide d'une pipette de transfert, transférer 50 µL du milieu de l'écouvillon dans un dispositif SMP PREP III ***illumi****gene*. Jeter la pipette de transfert. Étiqueter le dispositif SMP PREP avec l'identification de l'échantillon.
3. Remettre en place le bouchon du SMP PREP III et passer au Vortex pendant 10 secondes environ.
4. Enlever le bouchon de l'embout du SMP PREP III et presser pour transférer tout le contenu du SMP PREP III dans un tube de traitement thermique. E tiqueter le tube avec l'identification de l'échantillon.
5. Répéter les étapes de PREPARATION DES ECHANTILLONS pour tous les échantillons à traiter. Les échantillons traités peuvent être conservés à température ambiante (de 19 à 30 C) pendant 2 heures maximum avant le traitement thermique
6. Chauffer chaque tube de traitement thermique contenant l'échantillon dans un bain sec/bloc chauffant à 95 ± 5 C pendant 10 ± 2 minutes. Surveiller l'étape de traitement thermique à l'aide d'un thermomètre numérique et d'un minuteur.
7. Retirer chaque tube de traitement thermique du bain sec/bloc chauffant. Les échantillons ayant été traités thermiquement peuvent être conservés à température ambiante (de 19 à 30 C) pendant un maximum de 15 minutes avant d'être testés.

REMARQUE: la quantité d'échantillon préparée recueillie à la fin des étapes de PREPARATION DES ECHANTILLONS doit être suffisante pour réaliser les deux tests ***illumi****gene* HSV 1 et HSV 2.

PROCEDURE DE TEST
REMARQUE: il est possible de traiter au maximum 5 échantillons pour HSV 1 et HSV 2 en un seul passage dans l'***illumi****pro-10*. **Les dispositifs de test HSV 2 sont identifiés par une bande orange sur leur languette de fermeture.**
1. Passer au Vortex les échantillons traités thermiquement pendant environ 10 secondes.
2. Utiliser 1 dispositif de test ***illumi****gene* HSV 1 et 1 dispositif de test ***illumi****gene* HSV 2 par échantillon. Retirer les dispositifs de leurs pochettes de protection. Ouvrir les dispositifs avec précaution en tenant les compartiments de sorte que les réactifs lyophilisés ne tombent pas au moment de l'ouverture. Placer les dispositifs sur une surface plane ou sur un support adapté pour les recevoir.
3. A l'aide d'une pipette, transférer 50 µL de chaque échantillon vers le puits TEST (bille blanche) et le puits CONTROLE (bille jaune) du dispositif de test ***illumi****gene* HSV 1 et du dispositif de test ***illumi****gene* HSV 2**.** Veiller à ne pas faire entrer d'air dans les milieux réactionnels.
4. Ajouter 1 goutte d'huile minérale à la fois dansle puits TEST et dansle puitsCONTROLE des dispositifs de test ***illumi****gene* HSV 1 et HSV 2. Fermer les dispositifs de test ***illumi****gene* et rabattre correctement les loquets.
5. Tapoter le dispositif sur la paillasse ou mélanger pour éliminer les bulles d'air. Examiner soigneusement chaque dispositif de test pour vérifier la réhydratation de la bille de contrôle/de test, l'absence de bulles d'air dansles puits et de liquide au sommet du dispositif. Si les billes ne sont pas dissoutes, en cas de présence de bulles d'air ou de liquide au sommet du dispositif, tapoter celui-ci sur la paillasse et répéter l'examen visuel. L'amplification et la détection doivent commencer dans les 15 minutes.
6. Répéter les étapes de la PROCEDURE DE TEST pour tous les échantillons à tester.
7. Insérer les dispositifs de test ***illumi****gene* dans l'***illumi****pro-10* et lancer l'opération. Les résultats seront affichés à la fin de l'exécution du test.

INTERPRETATION DES RESULTATS

ID échantillon	Résultats indiqués	Interprétation
Echantillon de patient	POSITIF	**DISPOSITIF DE TEST HSV 1:** l'échantillon contient l'ADN HSV 1 cible. **DISPOSITIF DE TEST HSV 2:** l'échantillon contient l'ADN HSV 2 cible.
	NEGATIF	**DISPOSITIF DE TEST HSV 1:** pas d'ADN HSV 1 cible détecté. **DISPOSITIF DE TEST HSV 2:** pas d'ADN HSV 2 cible détecté.
	NON VALIDE	**Aucun rendu de résultat possible. Recommencer le test à l'aide de l'échantillon de patient d'origine.** Échantillon de patient inhibiteur, mauvaise préparation de l'échantillon, échec du réactif, erreur de l'instrument ou échec du contrôle interne.
Contrôle positif	POSITIF	Résultat de Contrôle positif valide. Réactifs actifs au moment de l'utilisation, fonctionnement correct de l'***illumi****pro-10*.
	NEGATIF	**Résultat de contrôle non valide.** En premier lieu, recommencer le test de contrôle pour déterminer la cause de l'échec. Si les échecs de contrôle se reproduisent, s'adresser au service technique de Meridian au 1-800-343-3858 (Etats-Unis) ou au distributeur local.
	NON VALIDE	**Aucun rendu de résultat possible.** En premier lieu, recommencer le test de contrôle pour déterminer la cause de l'échec. Si les échecs de contrôle se reproduisent, s'adresser au service technique de Meridian au 1-800-343-3858 (Etats-Unis) ou au distributeur local. Mauvaise préparation de l'échantillon, échec du réactif, erreur de l'instrument ou échec du contrôle interne.
Contrôle négatif	POSITIF	**Résultat de contrôle non valide.** En premier lieu, recommencer le test de contrôle pour déterminer la cause de l'échec. Si les échecs de contrôle se reproduisent, s'adresser au service technique de Meridian au 1-800-343-3858 (Etats-Unis) ou au distributeur local.
	NEGATIF	Résultat de Contrôle négatif valide. Réactifs actifs au moment de l'utilisation, fonctionnement correct de l'***illumi****pro-10*.
	NON VALIDE	**Aucun rendu de résultat possible.** En premier lieu, recommencer le test de contrôle pour déterminer la cause de l'échec. Si les échecs de contrôle se reproduisent, s'adresser au service technique de Meridian au 1-800-343-3858 (Etats-Unis) ou au distributeur local. Mauvaise préparation de l'échantillon, échec du réactif, erreur de l'instrument ou échec du contrôle interne.
PUITS VIDE	AUCUN	Aucun dispositif de test ***illumi****gene* dans le puits de l'***illumi****pro-10*. **OU** le dispositif de test ***illumi****gene* présent ne répond pas en raison d'une mauvaise préparation de l'échantillon, de saleté ou d'un mauvais positionnement du dispositif. **Recommencer le test à partir des échantillons d'origine.**

CONTROLE DE QUALITE

Ce test doit être réalisé en fonction des exigences des réglementations locales et / ou nationales ou des directives des organismes d'accréditation.

1. Chaque dispositif contient un contrôle interne qui vérifie l'absence d'inhibition de l'amplification, l'efficacité des réactifs de test et du traitement des échantillons. L'ADN du contrôle interne est présent dans le SMP PREP III et il subit toutes les étapes de la procédure. Les amorces d'amplification de l'ADN du contrôle interne sont présentes dans le puits contrôle du dispositif de test ***illumi****gene*.
2. L'étape du traitement thermique est surveillée avec un thermomètre et un minuteur externes. Utiliser la mémoire des températures maximum/minimum du thermomètre pour vérifier qu'une température de 95 ± 5 C est maintenue. Utiliser le minuteur pour vérifier que la durée du traitement thermique est de 10 ± 2 minutes.
3. Les bonnes pratiques de laboratoire recommandent l'emploi de matériels de contrôle. Les utilisateurs doivent suivre les directives locales, nationales ou fédérales appropriées relatives à l'exécution de contrôles de qualité externes.
4. Les réactifs de contrôle externes ***illumi****gene* HSV 1&2 sont vendus séparément (référence 279960). Il est recommandé de vérifier la réactivité de chaque nouveau lot et de chaque nouvel envoi d' ***illumi****gene* HSV 1&2 à la réception et avant l'emploi. Les tests de contrôle externe doivent être exécutés par la suite conformément aux directives locales, nationales et fédérales. Le kit de test ***illumi****gene* HSV 1&2 ne doit pas être utilisé pour tester les patients si les contrôles externes ne fournissent pas de résultats corrects.
5. Utiliser un dispositif de test séparé pour chaque réactif de contrôle externe.

VALEURS ATTENDUES

La prévalence de HSV 1 et HSV 2 a été calculée lors d'études cliniques en 2014-2015 basées sur l'âge des patients et par emplacement des lésions anatomiques. L'incidence globale pendant l'étude était de 24,2% (236/975) pour HSV 1 et de 19,4% (224/1154) pour HSV 2. Les données de prévalence spécifiques sont données ci-dessous.

Étude combinée - Prévalence cutanée suivant l'emplacement anatomique de l'échantillon (N=306)						
Source	**HSV 1**			**HSV 2**		
	Nbre total	**Total positifs**	**Prévalence**	**Nbre total**	**Total positifs**	**Prévalence**
Lésion cutanée	92	7	7,6%	92	28	30,4%
Génitale -- Pénis	214	47	22,0%	214	27	12,6%
Étude combinée - Prévalence cutanéomuqueuse suivant l'emplacement anatomique de l'échantillon (N=852)						
Source	**HSV-1**			**HSV-2**		
	Nbre total	**Total positifs**	**Prévalence**	**Nbre total**	**Total positifs**	**Prévalence**
Ano-rectal	47 (1*)	7	14,9%	46 (2*)	9	19,6%
Génital – Vaginal/Cervical	624 (2*)	112	17,9%	626	158	25,2%
Nasal	18	9	50,0%	18	0	0,0%
Oculaire	20	0	0,0%	20	0	0,0%
Lésion orale	135	53	39,3%	135	2	1,5%
Urétral	5	1	20,0%	5	0	0,0%

***** Nombre d'échantillons produisant un résultat ***illumi****gene* non valide.

Étude combinée - Prévalence cutanée pen fonction de l'âge (N=306)						
Age	**HSV-1**			**HSV-2**		
	Nbre total	**Total positifs**	**Prévalence**	**Nbre total**	**Total positifs**	**Prévalence**
5 ans et plus	38	12	31,6%	38	1	2,6%
6 à 12 ans	16	7	43,8%	16	1	6,3%
12 à 22 ans	59	15	25,4%	59	9	15,3%
22 à 59 ans	156	17	10,9%	156	31	19,9%
60 ans ou moins	37	3	8,1%	37	13	35,1%
Non fourni	0	0	0,0	0	0	0,0
Combined Study - Mucocutaneous Prevalence by Age (N=852)						
Age	**HSV-1**			**HSV-2**		
	Nbre total	**Total positifs**	**Prévalence**	**Nbre total**	**Total positifs**	**Prévalence**
5 ans et plus	47	8	17,0%	47	0	0,0%
6 à 12 ans	16	1	6,3%	16	0	0,0%
12 à 22 ans	208 (1*)	58	27,9%	209	53	25,4%
22 à 59 ans	512 (1*)	98	19,1%	513	105	20,5%
60 ans ou moins	63 (1*)	17	27,0%	63 (1*)	11	17,5%
Non fourni	3	0	0,0%	2 (1*)	0	0,0%

* Nombre d'échantillons produisant un résultat ***illumi****gene* non valide.

LIMITES DU TEST

1. La performance d'***illumi****gene* HSV 1&2 a été établie avec des échantillons de lésion cutanée et cutanéo-muqueuse prospective, chez des sujets masculins et féminins. La performance avec d'autres types d'échantillon (échantillons congelés ou LCR) n'a pas été établie.
2. Le test n'est pas destiné à servir au dépistage prénatal.
3. Des traitements comportant l'ingrédient actif Zincum Gluconicum ont produit des résultats non valides lorsque testés à 7% vol./vol. avec ***illumi****gene* HSV 1&2. La concentration de Zincum Gluconicum testée est excessive comparée à la concentration attendue de Zincum Gluconicum présente dans les échantillons cliniques; des concentrations plus faibles n'ont pas été testées. L'effet du Zincum Gluconicum sur les résultats d'***illumi****gene* HSV 1&2 n'a pas été déterminé en utilisant des échantillons cliniques.
4. Il a été constaté que la caséine à des concentrations supérieures à 5 mg/mL interférait avec le dosage d'***illumi****gene* HSV 1&2.
5. Ce produit ne peut être utilisé qu'avec l'instrument *illumipro-10*.

6. Le test *illumigene* HSV 1&2 est un test qualitatif et ne fournit pas de valeurs ni d'informations quantitatives sur la charge de l'organisme.
7. La détection des acides nucléiques dépend d'un prélèvement, d'une manipulation, d'un transport, d'un stockage et d'une préparation adaptés. Le non-respect de la procédure appropriée lors de l'une de ces étapes peut entraîner des résultats incorrects.
8. Les acides nucléiques de l'organisme peuvent persister *in vivo*, indépendamment de la viabilité de l'organisme. Le test *illumi*gene HSV 1&2 ne fait de pas de distinction entre organismes viables et non viables.
9. Comme avec tous les tests de diagnostic moléculaire, (A) des résultats faussement négatifs peuvent se produire en raison de la présence d'inhibiteurs, d'erreurs techniques, de mélanges d'échantillons ou de faibles quantités d'organismes dans l'échantillon clinique; (B) des résultats faussement positifs peuvent se produire en raison de la présence d'une contamination croisée par des organismes cibles, leurs acides nucléiques ou du produit amplifié, et en raison de signaux non spécifiques.

PERFORMANCES DU TEST

Les caractéristiques de performance du test d'amplification de l'ADN ***illumi****gene* HSV 1&2 ont été évaluées dans des tests cliniques réalisés entre octobre 2014 et mars 2015 par sept centres de tests cliniques indépendants représentant quatre régions géographiquement distinctes à travers les Etats-Unis. Les caractéristiques de performance du test ont été comparées à la méthode de référence du système de test de typage ELVIS® HSV ID et D^3.

Les échantillons comprenaient des échantillons sur écouvillons de lésions cutanées et cutanéo-muqueuses provenant de patients suspectés d'infection par le virus herpès simplex de type 1 (HSV-1) ou de type 2 (HSV-2). Les échantillons classés comme cutanés comprenaient des lésions de peaux et génitales – du pénis. Les échantillons rangés dans la catégorie cutanéo-muqueuse comprenaient les sites suivants : ano-rectal, génital-vaginal/cervical, nasal, oculaire, oral et urétral.

Un total de 1158 restes de prélèvements sur écouvillon de lésion éligibles, sans identification, provenant de patients symptomatiques masculins et féminins, ont été évalués. Les échantillons ont été prélevés sur des patients âgés de 1 jour à 89 ans. Pour HSV 1, un total de 723 (74,3%) échantillons de patients de sexe féminin et 247 (25,3%) de sexe masculin ont été testés, et pour HSV 2, un total de 871 (75.5%) échantillons de patients de sexe féminin et 277 (24,0%) de sexe masculin ont été testés. Quatre (4) échantillons HSV 1 (0,4%) et cinq (5) échantillons HSV 2 étaient de sexe inconnu (0,4%). Aucune influence n'était attendue sur les performances du test du fait du sexe des patients.

Un échantillon était HSV positif par ELVIS, sans toutefois pouvoir être identifié comme HSV 1 ou HSV 2 (indéterminé) et n'a pas été inclus dans l'analyse de performance. Un échantillon a été testé avec des cellules ELVIS contaminées et n'a pas pu donner de résultat (indéterminé). Le système de test de typage ELVIS HSV ID et D^3 est incapable de détecter HSV 1 si HSV 2 a été identifié en premier dans des échantillons co-infectés. Par conséquent, si un échantillon était positif à HSV 2 par ELVIS, il était retiré des calculs de l'analyse de performance pour HSV 1. Cent soixante dix-neuf (179) échantillons ont été identifiés comme positifs à HSV 2 par ELVIS et ont été retirés de l'analyse des données HSV 1. Deux échantillons ont été identifiés comme ***illumi****gene* positifs à la fois pour HSV 1 et HSV 2, et ont été exclus des analyses de performance HSV 1 et HSV 2. Les tableaux ci-dessous incluent la performance des 975 échantillons HSV 1 restants et de 1154 échantillons HSV 2 pour tous les sites combinés.

Sites combinés: HSV 1 cutané

		Méthode de référence				Performance			95% CI
		Pos	**Nég**	**Total**	**INV**				
illumi*gene* HSV 1&2	**Pos**	48	6[a]	54	0	**Sens**	48/51	94,1%	84,1-98,0%
	Nég	3[b]	207	210	0	**Spec**	207/213	97,2%	94,0-98,7%
	Total	51	213	264	0				

[a] 6/6 échantillons identifiés comme positifs à HSV 1 par un test moléculaire alternatif, autorisé par la FDA.
[b] 1/3 chantillons identifiés comme négatifs à HSV 2 par un test moléculaire alternatif, autorisé par la FDA.

Sites combinés: HSV 1 cutanéo-muqueux (N=710)

		Méthode de référence				Performance			95% CI
		Pos	**Nég**	**Total**	**INV[a]**				
illumi*gene* HSV 1&2	**Pos**	152	28[b]	180	0 (1)	**Sens**	152/160	95,0%	90,4-97,4%
	Nég	8[c]	522	530	2 (8)	**Spec**	522/550	94,9%	92,7-96,5%
	Total	160	551	710	9				

[a] 6/9 échantillons initiaux non valides ont produit des résultats positifs ou négatifs sur des tests répétés; 2/9 n'ont pas été retestés. Un était indéterminé pour le test ELVIS.
[b] 19/28 échantillons ont été identifiés comme positifs à HSV 1 par un test moléculaire alternatif, approuvé par la FDA; 3 échantillons n'ont pas pu être testés.
[c] 7/8 échantillons ont été identifiés comme négatifs à HSV 1 par un test moléculaire alternatif, approuvé par la FDA; 1 échantillon n'a pas pu être testé.

Sites combinés: HSV 2 cutanéo-muqueux (N=306)

		Méthode de référence				Performance			95% CI
		Pos	**Nég**	**Total**	**INV[a]**				
illumi*gene* HSV 1&2	**Pos**	42	13[b]	55	0	**Sens**	42/42	100%	91,6-100,0%
	Nég	0	251	251	0 (1)	**Spec**	251/264	95,1%	91,8-97,1%
	Total	42	264	306	1				

[a] 1 échantillon initial non valide répété comme négatif.
[b] 8/13 échantillons ont été identifiés comme positifs à HSV 2 par un test moléculaire alternatif, approuvé par la FDA; 1 échantillon n'a pas pu être testé.

SItes combinés: HSV 2 cutanéo-muqueux (N=847)

		Méthode de référence				Performance			95% CI
		Pos	Nég	Total	INV[a]				
illumigene HSV 1&2	Pos	135	31[b]	166	0	Sens	135/137	98,5%	94,8-99,6%
	Nég	2[c]	679	681	2 (3)	Spec	679/710	95,6%	93,9-96,9%
	Total	137	710	847	3				

[a] 1/3 échantillons initialement non valides, à nouveau négatifs lors de tests répétés.
[b] 24/31 échantillons ont été identifiés comme positifs à HSV 2 par un test moléculaire alternatif, autorisé par la FDA; 4 échantillons n'ont pas pu être testés.
[c] 7/8 échantillons ont été identifiés comme négatifs à HSV 1 par un test moléculaire alternatif, autorisé par la FDA.

SENSIBILITE ANALYTIQUE
La sensibilité analytique ou limite de détection (LoD) a été déterminée à l'aide de deux souches, une de HSV 1 et une de HSV 2. La LoD a été confirmée à l'aide de 60 réplicats et une probabilité déclarée (par ex., 95%, où 57/60 réplicats sont positifs) d'obtenir des réponses positives.

HSV Strain	$TCID_{50}$/mL
HSV-1 HF (VR-260)	$7{,}20 \times 10^3$
HSV-1 McIntyre (VR-539)	$9{,}89 \times 10^4$
HSV-2 G (VR-734)	$1{,}20 \times 10^3$
HSV-2 MS (VR-540)	$1{,}60 \times 10^3$

La LoD finale attribuée au test est $9{,}89 \times 10^4$ $DICT_{50}$/mL pour HSV 1 et $1{,}60 \times 10^3$ $DICT_{50}$/mL pour HSV 2.

En outre, vingt (20) échantillons cliniques HSV 1 et vingt (20) échantillons cliniques HSV 2 provenant de divers emplacements anatomiques (oral, génital, ano-rectal, etc.) ont été évalués à la LoD du test pour HSV 1 ($9{,}89 \times 10^4$ $DICT_{50}$/mL) et HSV 2 ($1{,}60 \times 10^3$ $DICT_{50}$/mL). Tous les échantillons cliniques ont été détectés par le test ***illumi****gene* HSV 1&2 à la LoD, ou en dessous, sauf un échantillon HSV 1 qui a été détecté à $7{,}20 \times 10^7$ $DICT_{50}$/mL.

REPRODUCTIBILITE DU TEST
Des études de reproductibilité ont été menées par trois des sept sites cliniques participants. Les laboratoires participants ont reçu des microplaques codées en aveugle de 18 (dix-huit) échantillons. Les échantillons furent triés au hasard sur chaque microplaque afin de masquer les identités. Les microplaques testées comprenaient des échantillons HSV 1 (souche HF) et HSV 2 (souche MS) préparés artificiellement, tels que des échantillons faiblement positifs (HSV 1: $2{,}16 \times 10^4$ $DICT_{50}$/mL ou HSV 2: $4{,}80 \times 10^3$ $DICT_{50}$/mL), échantillons faiblement positifs (HSV 1: $1{,}08 \times 10^4$ $DICT_{50}$/mL ou HSV 2: $2{,}40 \times 10^3$ $DICT_{50}$/mL), ou deux échantillons fortement négatifs (HSV 1[a]: 308 $DICT_{50}$/mL, HSV 1[b]: 29,7 $DICT_{50}$/mL; HSV 2[a]: 24 $DICT_{50}$/mL, HSV 2[b]: 2,2 $DICT_{50}$/mL). La microplaque comprenait également deux échantillons HSV 1 et HSV 2 négatifs, un contrôle positif et un contrôle négatif. Les tests ont été exécutés par des techniciens différents dans chaque centre, le même jour (variabilité intra-test), pendant cinq jours (variabilité inter-tests). Trois lots de ***illumi****gene* HSV 1&2 et cinq instruments ***illumi****pro-10* furent utilisés dans cette étude. Les contrôles positifs et négatifs furent testés avec chaque microplaque. Les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Résumé de l'étude de reproductibilité pour HSV 1								
Type d'échantillon	Site 1		Site 2		Site 3		Total	
	Concordance en pourcentage		Concordance en pourcentage		Concordance en pourcentage		Concordance en pourcentage	
HSV-1 Modérément positif	30/30	100,0%	30/30	100,0%	30/30	100,0%	90/90	100,0%
HSV-1 Faiblement positif	30/30	100,0%	30/30	100,0%	30/30	100,0%	90/90	100,0%
HSV-1 & HSV-2 Fortement négatif[a]	20/30	66,7%	26/30	86,7%	20/30	66,7%	66/90	73,3%
HSV-1 & HSV-2 Fortement négatif[b]	29/30	96,7%	30/30	100,0%	29/30	96,7%	88/90	97,8%
HSV-1 Négatif	60/60	100,0%	60/60	100,0%	60/60	100,0%	180/180	100,0%
Negative Control	10/10	100,0%	10/10	100,0%	10/10	100,0%	30/30	100,0%
Positive Control	10/10	100,0%	10/10	100,0%	10/10	100,0%	30/30	100,0%

Reproducibility Study Summary for HSV-2								
Type d'échantillon	Site 1		Site 2		Site 3		Total	
	Concordance en pourcentage		Concordance en pourcentage		Concordance en pourcentage		Concordance en pourcentage	
HSV-2 Modérément positif	30/30	100,0%	30/30	100,0%	30/30	100,0%	90/90	100,0%
HSV-2 Faiblement positif	30/30	100,0%	30/30	100,0%	30/30	100,0%	90/90	100,0%
HSV-1 & HSV-2 Fortement négatif [a]	25/30	83,3%	29/30	96,7%	25/30	83,3%	79/90	87,8%
HSV-1 & HSV-2 Fortement négatif [b]	29/30	96,7%	30/30	100,0%	29/30	96,7%	88/90	97,8%
HSV-2 Négatif	60/60	100,0%	60/60	100,0%	60/60	100,0%	180/180	100,0%
Negative Control	10/10	100,0%	10/10	100,0%	10/10	100,0%	30/30	100,0%
Positive Control	10/10	100,0%	10/10	100,0%	10/10	100,0%	30/30	100,0%

REACTIONS CROISEES

Des études de réactivité croisée ont employé des échantillons positifs (HSV 1 souche HF et HSV 2 souche MS) et des échantillons négatifs dans lesquels ont été inoculés des organismes bactériens et fongiques à une concentration minimum de 1,0 x 10^6 CFU/mL (1,0 x 10^6 copies/mL où de l'ADN génomique était utilisé) ou des virus à une concentration minimum de 1,0 x 10^5 $DICT_{50}$/mL (1,0 x 10^6 copies/mL où de l'ADN ou de l'ARN génomique était utilisé). Aucun des organismes suivants ou leur matériel génétique n'a réagi avec ***illumi****gene* HSV 1&2.

Adénovirus, Coronavirus, Coxsackievirus, Cytomégalovirus, Echovirus, Enterovirus, virus d'Epstein Barr, Influenza A , Influenza B, Hépatite B, Hépatite C , virus Herpès humain de type 6, 7, 8, virus de l'immunodéficience humain de type 1 , métapneumovirus humain, ***papillomavirus*** humain, virus de la rougeole, virus des oreillons, virus parainfluenza, ***virus respiratoire syncytial***, virus de la rubéole, virus ***varicelle-zona***.

L'ADN génomique humain était non réactif à 1,0 x 10^6 copies/mL. Il n'y avait aucune inhibition concurrente entre les virus HSV 1 et HSV 2 dans le test ***illumi****gene* HSV 1&2.

TESTS POUR LES SUBSTANCES INTERFERENTES

Un test d'interférence a été mené en présence de concentrations des pires cas de substances chimiques et biologiques introduites directement dans des échantillons positifs préparés artificiellement (souches HSV-1: McIntyre et HF; souches HSV-2: G et MS) et des échantillons négatifs. Aucune interférence n'a été observée avec les substances suivantes:

(1) A des concentrations de 7% poids/vol. ou vol./vol.: Abreva® (10% Docosanol), lotion de nettoyage hygiénique Balneol®, Carmex® Original Lip Balm (1,7% camphre, 0,7% menthol), Desitin® (40% oxyde de zinc), Douche (CVS Pharmacy® jetable), dentifrice au fluor (Crest®, 0,243% de fluorure de sodium), gélatine de marque K-Y®, Lanacane® (0,2% de chlorure de benzéthonium, 20% de benzocaïne), Lip Clear® Lysine+® (1,2% d'oxyde de zinc), Miconazole 3 (soulagement d'infections aux levures CVS™: 2% nitrate de miconazole nitrate), bain de bouche (Listerine® Original: 0,092% eucalyptol, 0,042% menthol, 0,060% salicylate de méthyle, 0,064% thymol), onguent hémorroïdal Préparation H® (14% huile minérale, 74,9% pétrolatum, 0,25% chlorhydrate de phényléphrine), Releev® (0,13% chlorure de benzalkonium), Tioconazole, Vagisil® Regular Strength (5% benzocaïne, 2% résorcinol), gel de traitement Yeast Guard® (Candida albicans, 27X HPUS; Candida parapsilosis, 27X HPUS; Pulsatilla, 27X HPUS), selles, liquide séminal, urine, sang total

(2) A des concentrations de: 60 µg/mL– mucus (mucine, glande sous-maxillaire bovine type I-S); 1,25 mg/mL– fécule de maïs; 3,3 mg/mL – albumine; 5 mg/mL – acétaminophène, caséine, maléate de chlorphéniramine; 7 mg/mL – Acyclovir; 10 mg/mL – acide acétylsalicylique, hydrobromure de dextrométorphane.

Il a été constaté que la caséine à des concentrations supérieures à 5 mg/mL interférait avec le test

Le remède pour le rhume et le mal de gorge Cold-EEZE® (zincum gluconicum 2X) a été testé à 7% vol./vol. et a produit des résultats non valides dans tous les réplicats.

ESPAÑOL

illumigene®

HSV 1&2
DNA Amplification Assay

Ensayo de amplificación de ADN para la detección del virus del herpes simple tipo 1 y del virus del herpes simple tipo 2

REF **280650** IVD **Dispositivo médico para diagnóstico in vitro** **R_x Only**

USO INDICADO
El ensayo de amplificación de ADN ***illumi****gene* HSV 1&2, que se realiza en el ***illumi****pro-10*™, es una prueba cualitativa de diagnóstico in vitro para la detección directa y la diferenciación del virus del herpes simple tipo 1 (HSV-1) y del virus del herpes simple tipo 2 (HSV-2) en muestras de lesiones cutáneas y mucocutáneas.

El ***illumi****gene* HSV 1&2 utiliza la tecnología de amplificación isotérmica de ADN mediante tallo-bucle (*loop-mediated isothermal DNA amplification*, LAMP) para la detección de HSV-1 y HSV-2 tomando como diana segmentos del genoma del virus del herpes simple tipo 1 y del virus del herpes simple tipo 2. Los resultados del ***illumi****gene* HSV 1&2 se utilizan como ayuda para el diagnóstico de la infección por HSV en pacientes sintomáticos de ambos sexos.

El ***illumi****gene* HSV 1&2 no ha sido concebido para ser utilizado con líquido cefalorraquídeo (LCR) ni como ayuda para el diagnóstico de infecciones por HSV en el sistema nervioso central (SNC). El dispositivo no ha sido concebido para el cribado prenatal. El ensayo ha sido concebido para su uso en laboratorios hospitalarios y laboratorios estatales o de referencia. Este dispositivo no ha sido concebido para ser utilizado en ámbitos clínicos fuera de un laboratorio.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA
El ***illumi****gene* HSV 1&2 se basa en la tecnología de amplificación isotérmica de ADN mediante tallo-bucle (LAMP).[1, 2] El ensayo toma como objetivos individuales regiones de los genomas del HSV-1 y del HSV-2 en dos dispositivos de prueba independientes. La diana para el HSV-1 es una secuencia de 208 pares de bases (pb) del gen de la glucoproteína G (US4) del HSV-1. La diana para el HSV-2 es una secuencia de 189 pb del gen de la glucoproteína G (US4) del HSV-2.

La amplificación mediante tallo-bucle utiliza cebadores especialmente diseñados para proporcionar una amplificación isotérmica de ADN continua y específica. Un subproducto de esta amplificación es el pirofosfato de magnesio, que forma un precipitado blanco que lleva a una solución de reacción turbia. Las características de absorbancia de la solución de reacción son monitorizadas por el incubador/lector ***illumi****pro-10* de Meridian. Los cambios en las características de absorbancia de la solución de reacción creados por la precipitación del pirofosfato de magnesio indican la presencia del ADN diana. La ausencia del ADN diana tiene como resultado un cambio no significativo en la absorbancia de la muestra.

El kit ***illumi****gene* HSV 1&2 incluye el aparato para la preparación de muestras III (SMP PREP III) ***illumi****gene*, dispositivos de prueba ***illumi****gene* HSV 1, dispositivos de prueba ***illumi****gene* HSV 2, aceite mineral, tubos para el tratamiento térmico y pipetas de transferencia de 50 µL. El SMP PREP III ***illumi****gene*, utilizado para la dilución y preparación de muestras, incluye una solución tamponada con Tris que contiene *E. coli* tratada con formol que alberga ADN de *Staphylococcus aureus*. El dispositivo de prueba ***illumi****gene* HSV 1 contiene una microesfera de reactivo de amplificación liofilizado en cada una de las dos cámaras: una cámara de PRUEBA con cebadores específicos para HSV-1 y una cámara de CONTROL con cebadores específicos para *S. aureus*. El dispositivo de prueba ***illumi****gene* HSV 2 contiene una microesfera de reactivo de amplificación liofilizado en cada una de las dos cámaras: una cámara de PRUEBA con cebadores específicos para HSV-2 y una cámara de CONTROL con cebadores específicos para *S. aureus*. El ADN de *S. aureus* en el SMP PREP III y los cebadores específicos para *S. aureus* en las cámaras de CONTROL de los dispositivos de prueba funcionan como control interno para el ensayo. Durante la preparación de las muestras, cada muestra del paciente se añade al SMP PREP III que contiene el control del ensayo y se combina con el ADN de *S. aureus* antes de la amplificación. La adición de ADN de *S. aureus* a la muestra del paciente permite el procesamiento paralelo del ADN diana y del ADN de control durante la amplificación y la detección. El control interno monitoriza la inhibición de la amplificación, el rendimiento de los reactivos del ensayo y la eficacia del procesamiento de la muestra. La diana de control *S. aureus* debe amplificarse y detectarse en la reacción final; en caso contrario, la prueba se considerará no válida y no se notificarán los resultados.

El ***illumi****pro-10* monitoriza los cambios en las características de absorbencia a través de la medición de la transmisión de luz por las soluciones de reacción de Prueba y Control. La transmisión de luz se comprueba al Inicio del proceso ($Señal_{inicial}$, S_i) y al Final del proceso ($Señal_{final}$, S_f) del ensayo. El ***illumi****pro-10* calcula el cambio producido en la transmisión de luz entre el Final del proceso y el Inicio del proceso (S_f:S_i) y compara el porcentaje con un valor de corte fijo.

Los valores de corte fijos de la cámara de PRUEBA se utilizan para informar resultados de muestras. Los porcentajes de la cámara de PRUEBA S_f:S_i inferiores al 82% se muestran como «POSITIVO»; los porcentajes de la cámara de PRUEBA S_f:S_i superiores o iguales al 82% se muestran como «NEGATIVO». *Los valores numéricos no se informan.*

Los valores de corte fijos de la cámara de CONTROL se utilizan para determinar la validez. Los porcentajes S_f:S_i de la cámara de CONTROL inferiores al 90 % se consideran válidos y permiten mostrar los resultados de la cámara de PRUEBA (POSITIVO, NEGATIVO). Los porcentajes S_f:S_i de la cámara de CONTROL superiores o iguales al 90 % se consideran no válidos e impiden notificar los resultados de la cámara de PRUEBA. Las reacciones no válidas de la cámara de CONTROL se informan como «NO VÁLIDAS». *Los valores numéricos no se informan.*

Los criterios de corte más rigurosos se aplican a la reacción de la cámara de CONTROL para garantizar que no se inhiba la amplificación, que los reactivos tengan el rendimiento esperado y que el procesamiento de muestras se haya realizado adecuadamente.

PRINCIPIOS BIOLOGICOS

El virus del herpes simple provoca infecciones crónicas y recurrentes y meningitis vírica en adultos y niños. La infección por el virus del herpes simple tipo 1 (HSV-1) es relativamente frecuente, con una seroprevalencia global que se aproxima al 54% de la población de los Estados Unidos.[3] El virus del herpes simple tipo 2 (HSV-2) es la causa principal del herpes genital. Se estima que 50 millones de personas en los EE. UU. y más de 400 millones de personas en todo el mundo están infectadas de herpes genital por el HSV-2, aproximadamente 1 de cada 5 personas.[4, 5] Aunque tanto el HSV-1 como el HSV-2 pueden causar infecciones bucales o genitales, el HSV-1 está habitualmente asociado a las lesiones bucales y el HSV-2 está habitualmente asociado a las lesiones genitales. Sin embargo, la frecuencia de las infecciones genitales por el HSV-1 está aumentando.[3, 6] La transmisión del HSV a los neonatos puede ocurrir durante el parto, causando síntomas que van desde la enfermedad diseminada (SNC y vísceras) a la infección en la piel, ojos y boca.[7]

La infección por HSV puede diagnosticarse mediante microscopía, cultivo celular, y métodos moleculares y serológicos;[8] el cultivo celular y la PCR son los métodos diagnósticos preferidos y recomendados por los centros para la prevención y el control de enfermedades estadounidenses.[4] La sensibilidad del cultivo vírico es baja, en particular para lesiones recurrentes o en curación, debido a la limitada cantidad de virus viable.[4] El tipo de HSV no puede determinarse directamente del cultivo vírico, por lo que se requiere un método adicional de tipado (como ELVIS).[8] Los métodos PAAN son más sensibles que el cultivo, tienen la capacidad de diferenciar entre los tipos de HSV y proporcionan resultados con rapidez.[8]

REACTIVOS/MATERIALES PROPORCIONADOS

El número máximo de pruebas que se pueden obtener con este equipo está indicado en el exterior de la caja.

1. ***Aparato para la preparación de muestras III (SMP PREP III) illumi****gene*: Solución tamponada con Tris que contiene *E. coli* tratada con formol que alberga ADN de *S. aureus* y azida sódica (0,09%) como conservante.
2. ***Dispositivo de prueba illumi****gene* **HSV 1:** Dispositivo de dos cámaras que contiene reactivos de amplificación liofilizados (ADN-polimerasa, trifosfatos de desoxirribonucleótidos) y, o bien cebadores específicos para HSV-1 (cámara de PRUEBA) o cebadores específicos para *S. aureus* (cámara de CONTROL)**.**
3. ***Dispositivo de prueba illumi****gene* **HSV 2:** Dispositivo de dos cámaras que contiene reactivos de amplificación liofilizados (ADN-polimerasa, trifosfatos de desoxirribonucleótidos) y, o bien cebadores específicos para HSV-2 (cámara de PRUEBA) o cebadores específicos para *S. aureus* (cámara de CONTROL)**. El dispositivo de prueba *illumi****gene*** **HSV 2 se identifica visualmente por una banda naranja en la pestaña de cierre del dispositivo de prueba.**
4. **Aceite mineral** (frasco con cuentagotas)
5. ***Tubos para el tratamiento térmico (TT) illumi****gene*
6. **Pipetas de transferencia**

MATERIALES PROPORCIONADOS POR SEPARADO

Kit de control externo del ***illumi****gene* HSV 1&2, número de catálogo: 279960

MATERIALES NO PROPORCIONADOS

1. Guantes desechables de látex, sin polvo
2. Puntas de pipeta resistentes a los aerosoles, sin ribonucleasa/desoxirribonucleasa
3. Medio de transporte de virus: MicroTest™ M4®, MicroTest™ M4RT®, MicroTest™ M6™, UniTranz-RT™ Transport System, Copan UTM™ Virus Collection, HealthLink® UTM o medio de transporte idéntico*, BD Universal Viral Transport Medium (UVT), ViraTrans™ VTM, Hardy Diagnostics VTM.
   **HealthLink UTM es equivalente a Quest V-C-M Medium*

EQUIPO NO PROPORCIONADO

1. Baño seco con bloque de calor de 12 mm capaz de 95 C
2. Termómetro digital con memoria de temperatura máx/mín (p. ej., termómetro sumergible y a prueba de golpes Traceable® Lollipop™)
3. Mezclador Vortex
4. Cronómetro de intervalos
5. Micropipeta capaz de administrar 50 µL
6. ***illumi****pro-10,* Meridian Bioscience, Inc. Número de catálogo: 610172

PRECAUCIONES

1. Todos los reactivos son solamente para uso de diagnóstico in vitro.
2. Los medios de transporte de virus que contienen estabilizadores de las proteínas, como MicroTest™ M5® e hisopos de alginato cálcico, no son aceptables para la recogida y el transporte de muestras para el ensayo ***illumi****gene* HSV 1&2.
3. No intercambie el aparato para la preparación de muestras ni los dispositivos de prueba de lotes diferentes. El aceite mineral y los tubos para el tratamiento térmico son intercambiables siempre y cuando se usen dentro de la fecha de caducidad asignada.
4. Siga las Buenas Prácticas de Laboratorio y Bioseguridad de Nivel 2 durante la prueba.[9] Trate todas las muestras y los dispositivos de prueba usados como capaces de transmitir agentes infecciosos. No coma, beba ni fume en las zonas donde se manejan los reactivos del equipo o las muestras.
5. Use guantes desechables cuando maneje las muestras y lávese bien las manos después.
6. Se deben emplear programas de Control de Calidad para Laboratorios de Prueba Molecular, incluyendo el uso y cuidado correctos del equipo.[10]
7. Los *dispositivos de prueba* ***illumi****gene* HSV 1&2 contienen reactivos liofilizados. Las bolsas de protección no deberían abrirse hasta que se esté listo para realizar el ensayo.
8. Los dispositivos de prueba ***illumi****gene* HSV 1&2 incluyen un sistema de cierre diseñado para evitar la contaminación de la zona de pruebas con el producto de amplificación. NO utilice dispositivos de prueba con cierres rotos.
9. Deseche los dispositivos de prueba usados ***illumi****gene* HSV 1&2 inmediatamente después de su procesamiento, dejando el dispositivo bien cerrado. NO abra el dispositivo de prueba después de su procesamiento. Abrir el dispositivo después de la amplificación puede provocar una contaminación de la zona de pruebas con el producto de amplificación.

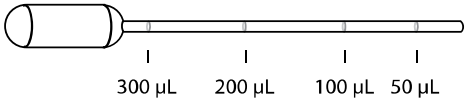
DECLARACIONES DE RIESGO Y PRECAUCIÓN

No se conoce ningún riesgo asociado con este producto

VIDA UTIL Y ALMACENAMIENTO

La fecha de caducidad se indica en la etiqueta del equipo. Almacene el equipo a una temperatura entre 2 y 30 C.

NOTAS PARA EL PROCEDIMIENTO
La pipeta de transferencia incluida en el kit ***illumi****gene* HSV 1&2 tiene un envoltorio individual y puede dispensar hasta 50 µL. Se incluye más abajo un diagrama de la pipeta.



PREPARACIÓN DE REACTIVOS
Asegúrese de que los reactivos del equipo están a temperatura ambiente (19 - 30 C) antes de su uso. Se pueden obtener resultados incorrectos si los reactivos no están a temperatura ambiente antes del uso.

RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA
Tipo de muestra: Muestras en hisopo de lesiones cutáneas y mucocutáneas humanas en medios de transporte de virus. Los siguientes medios de transporte de virus son aceptables para su utilización: MicroTest™ M4®, MicroTest™ M4RT®, MicroTest™ M6™, UniTranz-RT™ Transport System, Copan UTM™ Virus Collection, HealthLink® UTM o medio de transporte idéntico*, BD Universal Viral Transport Medium (UVT), ViraTrans™ VTM, Hardy Diagnostics VTM.
**HealthLink UTM es equivalente a Quest V-C-M Medium*

NOTA: Los medios de transporte de virus que contienen estabilizadores de las proteínas, como MicroTest™ M5® e hisopos de alginato cálcico, no son aceptables para su utilización con estos tipos de muestras.

Toma de muestras: La recogida de muestras de lesiones cutáneas y mucocutáneas debe realizarse de acuerdo con las directrices institucionales para la recogida de muestras clínicas en la infección por el virus del herpes simple.

Ponga el hisopo o hisopos en un medio de transporte de virus. Las muestras deben almacenarse refrigeradas (2 C-8 C) tras su recogida y durante el transporte al laboratorio. Las muestras deben evaluarse lo antes posible, aunque pueden almacenarse refrigeradas (2 C-8 C) durante un máximo de 7 días antes de ser evaluadas. No congele las muestras.

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA
NOTA: Asegúrese de que el ***illumi****pro-10* esté encendido y de que se hayan completado las verificaciones de funcionamiento necesarias antes de iniciar la PREPARACIÓN DE LA MUESTRA. Consulte el Manual del operador del ***illumi****pro-10* para obtener más información acerca de la instalación y el funcionamiento del instrumento.

NOTA: Asegúrese de que las muestras están a temperatura ambiente (19 C -30 C) antes de la preparación de las muestras.

1. Mezcle en vórtex el hisopo incluido en el medio de transporte durante aproximadamente 45-60 segundos.
2. Utilizando una pipeta de transferencia, transfiera 50 µL del medio del hisopo a un SMP PREP III ***illumi****gene*. Deseche la pipeta de transferencia. Etiquete el SMP PREP con la identificación de la muestra.
3. Vuelva a colocar la tapa del SMP PREP III y mezcle en vórtex durante aproximadamente 10 segundos.
4. Retire la tapa de la punta del SMP PREP III e introduzca apretando todo el contenido del SMP PREP III en un tubo para el tratamiento térmico. Etiquete el tubo con la identificación de la muestra.
5. Repita los pasos de PREPARACIÓN DE LA MUESTRA para todas las muestras que se vayan a procesar. Las muestras procesadas pueden mantenerse hasta 2 horas a temperatura ambiente (19 C - 30 C) antes del tratamiento térmico.
6. Caliente cada tubo para tratamiento térmico que contenga una muestra en un baño seco/bloque de calor a 95 ± 5 C durante 10 ± 2 minutos. Monitorice el tratamiento térmico con un termómetro digital y un temporizador de intervalos.
7. Saque cada tubo de tratamiento térmico del baño seco/bloque de calor. Las muestras tratadas térmicamente pueden mantenerse a temperatura ambiente (19 C - 30 C) durante un máximo de 15 minutos antes de ser evaluadas.

NOTA: La cantidad de muestra preparada al final de la PREPARACIÓN DE LA MUESTRA es suficiente para completar tanto la evaluación ***illumi****gene* HSV 1 como la HSV 2.

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA
NOTA: Se pueden procesar un máximo de 5 muestras tanto para HSV 1 como para HSV 2 en cada proceso del ***illumi****pro-10*. **Los dispositivos de prueba HSV 2 se identifican por una banda naranja en la pestaña de cierre del dispositivo de prueba.**
1. Mezcle en vórtex las muestras tratadas térmicamente durante aproximadamente 10 segundos.
2. Utilice 1 dispositivo de prueba ***illumi****gene* HSV 1 y 1 dispositivo de prueba ***illumi****gene* HSV 2 por muestra. Retire los dispositivos de sus bolsas de protección. Abra los dispositivos cuidadosamente, sujetando las cámaras de tal modo que los reactivos liofilizados no se salgan al abrir el dispositivo. Coloque los dispositivos en una superficie plana o en una gradilla que pueda albergar los dispositivos.
3. Utilizando una micropipeta, transfiera 50 µL de la muestra tanto a la cámara de PRUEBA (microesfera blanca) como a la cámara de CONTROL (microesfera amarilla) de los dispositivos de prueba HSV 1 y HSV 2 ***illumi****gene*. Tenga cuidado de no introducir aire en las mezclas de reacción.
4. Añada 1 gota de aceite mineral tanto a la cámara de PRUEBA como a la cámara de CONTROL de los dispositivos de prueba ***illumi****gene* HSV 1 y HSV 2. Cierre los dispositivos de prueba ***illumi****gene* y asegure bien los cierres.
5. Dé unos golpecitos en la parte plana superior de cada dispositivo o mezcle para quitar las burbujas de aire. Examine con cuidado en cada dispositivo de prueba la rehidratación de las microesferas de control y de prueba, la presencia de burbujas de aire en la cámara y de líquido en la parte superior del dispositivo. Si advierte microesferas sin disolver, burbujas de aire o líquido en la parte superior del dispositivo, dé unos golpecitos en la parte plana superior del dispositivo y repita la inspección visual. La amplificación y la detección deben comenzar en un plazo de 15 minutos.
6. Repita los pasos del PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA para todas las muestras que se vayan a evaluar.
7. Introduzca los dispositivos de prueba ***illumi****gene* en el ***illumi****pro-10* e inicie el proceso. Los resultados se mostrarán al final del proceso.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

ID de la muestra	Reported Result	Interpretación
Muestra de la paciente	POSITIVO	**DISPOSITIVO DE PRUEBA HSV 1:** La muestra contiene el ADN diana del HSV-1. **DISPOSITIVO DE PRUEBA HSV 2:** La muestra contiene el ADN diana del HSV-2.
	NEGATIVO	**DISPOSITIVO DE PRUEBA HSV 1:** No se ha detectado el ADN diana del HSV-1. **DISPOSITIVO DE PRUEBA HSV 2:** No se ha detectado el ADN diana del HSV-2.
	NO VÁLIDO	**Sin resultados notificables. Repita la prueba usando la muestra de la paciente original.** Muestra de la paciente inhibitoria, preparación de la muestra inadecuada, fallo del reactivo, fallo del instrumento a fallo de control interno.
Control positivo	POSITIVO	Resultado de control positive válido. Reactivos activos en el momento del uso, el ***illumi****pro-10* funciona correctamente..
	NEGATIVO	**Resultado de control incorrecto.** Repita la prueba de control como primer paso para determinar la causa de origen del fallo. Si los fallos de control se repiten, póngase en contacto con los servicios técnicos de Meridian al 1-800-343-3858 (EE.UU.) o con su distribuidor local.
	NO VÁLIDO	**Sin resultados notificables.** Repita la prueba de control como primer paso para determinar la causa de origen del fallo. Si los fallos de control se repiten, póngase en contacto con los servicios técnicos de Meridian al 1-800-343-3858 (EE.UU.) o con su distribuidor local. Preparación de la muestra inadecuada, fallo del reactivo, fallo del instrumento o fallo de control interno
Control negativo	POSITIVO	**Resultado de control incorrecto** Repita la prueba de control como primer paso para determinar la causa de origen del fallo. Si los fallos de control se repiten, póngase en contacto con los servicios técnicos de Meridian al 1-800-343-3858 (EE.UU.) o con su distribuidor local.
	NEGATIVO	Resultado de control negativo válido. Reactivos activos en el momento del uso, el ***illumi****pro-10* funciona correctamente.
	NO VÁLIDO	**Sin resultados notificables.** Repita la prueba de control como primer paso para determinar la causa de origen del fallo. Si los fallos de control se repiten, póngase en contacto con los servicios técnicos de Meridian al 1-800-343-3858 (EE.UU.) o con su distribuidor local. Preparación de la muestra inadecuada, fallo del reactivo, fallo del instrumento o fallo de control interno.
POCILLO VACIO	NINGUNO	No hay ningún dispositivo de prueba de ***illumi****gene* en el pocillo del ***illumi****pro-10*. **O** El dispositivo de prueba del ***illumi****gene* no funciona bien debido a un fallo en la preparación de la muestra o a que el dispositivo está sucio o mal colocado. **Repita la prueba usando la muestra original.**

CONTROL DE CALIDAD

Este ensayo debe ser realizado siguiendo las regulaciones de acreditación locales, estatales o federales.

1. Cada dispositivo contiene un control interno que controla la inhibición de la amplificación, la eficacia de los reactivos del ensayo y el procesamiento de la muestra. En el SMP PREP III hay ADN de control interno que se procesa durante todos los pasos del procedimiento. En la cámara de control del dispositivo de prueba ***illumi****gene* existen cebadores para la amplificación del ADN de control interno.
2. El tratamiento térmico se monitoriza con un termómetro externo y un temporizador de intervalos. Use la memoria de temperatura máx./mín. del termómetro para asegurarse de que se mantenga una temperatura de 95 ± 5 C. Use el temporizador de intervalos para asegurarse de que la duración del tratamiento térmico sea de 10 ± 2 minutos.
3. Las buenas prácticas de laboratorio recomiendan el uso de materiales de control. Los usuarios deberían seguir las directrices federales, estatales y locales adecuadas relativas a la ejecución de controles de calidad externos.
4. *Los reactivos de control externo* ***illumi****gene* HSV 1&2 se suministran por separado (número de catálogo 279960). Se recomienda que la reactividad de cada nuevo lote y de cada nuevo envío de ***illumi****gene* HSV 1&2 se verifique a la recepción y antes de su uso. Se deberían realizar pruebas de control externo a partir de ese momento, de conformidad con las directrices federales, estatales y locales adecuadas. El kit de prueba ***illumi****gene* HSV 1&2 no debería utilizarse en pacientes si los controles externos no ofrecen los resultados correctos.
5. Se debe utilizar un dispositivo de prueba independiente para cada reactivo de control externo

VALORES ESPERADOS

La prevalencia de HSV-1 y de HSV-2 se calculó durante los estudios clínicos realizados en 2014-2015 según la edad del paciente y la localización anatómica de las lesiones. La incidencia global durante el estudio fue del 24,2% (236/975) para el HSV-1 y del 19,4% (224/1154) para el HSV-2. Se ofrecen a continuación datos de prevalencia específicos.

Estudio combinado - Prevalencia cutánea según la localización anatómica de la muestra (N=306)						
Fuente	**HSV 1**			**HSV 2**		
	Número total	**Total positivos**	**Prevalencia**	**Número total**	**Total positivos**	**Prevalencia**
Lesión cutánea	92	7	7,6%	92	28	30,4%
Genital -- Pene	214	47	22,0%	214	27	12,6%
Estudio combinado - Prevalencia mucocutánea según la localización anatómica de la muestra (N=852)						
Fuente	**HSV-1**			**HSV-2**		
	Número total	**Total positivos**	**Prevalencia**	**Número total**	**Total positivos**	**Prevalencia**
Anorectal	47 (1*)	7	14,9%	46 (2*)	9	19,6
Genital -- Vaginal/Cervical	624 (2*)	112	17,9%	626	158	25,2%
Nasal	18	9	50,0%	18	0	0,0%
Ocular	20	0	0,0%	20	0	0,0%
Lesión bucal	135	53	39,3%	135	2	1,5%
Urethral	5	1	20,0%	5	0	0,0%

***** Número de muestras que producen un resultado ***illumi****gene* no válido.

Estudio combinado - Prevalencia cutánea por edad (N=306)						
Edad	**HSV-1**			**HSV-2**		
	Número total	**Total positivos**	**Prevalencia**	**Número total**	**Total positivos**	**Prevalencia**
≤5 años	38	12	31,6%	38	1	2,6%
6 a 12 años	16	7	43,8%	16	1	6,3%
12 a 22 años	59	15	25,4%	59	9	15,3%
22 a 59 años	156	17	10,9%	156	31	19,9%
≥60 años	37	3	8,1%	37	13	35,1%
No indicada	0	0	0,0	0	0	0,0
Estudio combinado - Prevalencia mucocutánea por edad (N=552)						
Edad	**HSV-1**			**HSV-2**		
	Número total	**Total positivos**	**Prevalencia**	**Número total**	**Total positivos**	**Prevalencia**
≤5 años	47	8	17,0%	47	0	0,0%
6 a 12 años	16	1	6,3%	16	0	0,0%
12 a 22 años	208 (1*)	58	27,9%	209	53	25,4%
22 a 59 años	512 (1*)	98	19,1%	513	105	20,5%
≥60 años	63 (1*)	17	27,0%	63 (1*)	11	17,5%
No indicada	3	0	0,0%	2 (1*)	0	0,0%

* Número de muestras que producen un resultado ***illumi****gene* no válido.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

1. El rendimiento de ***illumi****gene* HSV 1&2 se ha establecido únicamente con muestras prospectivas de lesiones cutáneas y mucocutáneas en hombres y mujeres. No se ha establecido el rendimiento con otros tipos de muestras (muestras congeladas o LCR).
2. El ensayo no ha sido concebido para ser utilizado para el cribado prenatal.
3. Los medicamentos que contienen el ingrediente activo Zincum Gluconicum (gluconato de cinc) produjeron resultados no válidos cuando se evaluaron al 7% v/v con ***illumi****gene* HSV 1&2. La concentración de Zincum Gluconicum evaluada es excesiva en comparación con la concentración esperada de Zincum Gluconicum presente en las muestras clínicas; no se evaluaron concentraciones más bajas. El efecto del Zincum Gluconicum sobre los resultados de ***illumi****gene* HSV 1&2 no se ha determinado utilizando muestras clínicas.
4. Se constató que la caseína a una concentración mayor de 5 mg/mL interfiere en el ensayo ***illumi****gene* HSV 1&2.
5. Este producto solo se puede utilizar con el instrumento ***illumi****pro-10*.
6. El ensayo ***illumi****gene* HSV 1&2 es un ensayo cualitativo y no proporciona valores cuantitativos ni información sobre la cantidad de microorganismo.

7. La detección de ácidos nucleicos depende de una obtención, manipulación, transporte, almacenamiento y preparación adecuados de las muestras. El no seguir el procedimiento adecuado en cualquiera de estos pasos puede dar lugar a resultados incorrectos.
8. Los ácidos nucleicos de los microorganismos pueden persistir *in vivo*, independientemente de la viabilidad del microorganismo. El ensayo ***illumi**gene* HSV 1&2 no distingue entre microorganismos viables y no viables.
9. Al igual que sucede con todas las pruebas de diagnóstico moleculares: (A) pueden producirse falsos resultados negativos debido a la presencia de inhibidores, a errores técnicos, a la mezcla de muestras o al escaso número de microorganismos presentes en la muestra clínica; (B) pueden producirse falsos resultados positivos debido a la presencia de contaminación cruzada con los microorganismos objetivo, con sus ácidos nucleicos o con el producto amplificado, así como por señales inespecíficas.

CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

Las características de rendimiento del ensayo de amplificación de ADN ***illumi**gene* HSV 1&2 se determinaron en los estudios clínicos realizados entre octubre de 2014 y marzo de 2015 en siete centros independientes de pruebas clínicas que representaban cuatro regiones geográficamente diferenciadas de los Estados Unidos. Las características de rendimiento del ensayo se compararon con el método de referencia, ELVIS® HSV ID and D^3 Typing Test System.

Las muestras incluyeron hisopos de lesiones cutáneas y mucocutáneas de pacientes en quienes se sospechaba una infección por el virus del herpes simple tipo 1 (HSV-1) o tipo 2 (HSV-2). Las muestras clasificadas como cutáneas incluyeron las lesiones en la piel y genitales-pene. Las muestras categorizadas como mucocutáneas incluyeron las localizaciones anorrectal, genital-vaginal/cervical, nasal, ocular, bucal y uretral.

Se evaluaron un total de 1158 muestras sobrantes anonimizadas idóneas en hisopo de lesiones en hombres y mujeres sintomáticos. Las muestras se obtuvieron de pacientes con edades comprendidas entre 1 día y 89 años. Se realizaron pruebas en un total de 723 (74,3%) muestras de mujeres y 247 (25,3%) muestras de hombres para el HSV-1 y en un total de 871 (75,5%) muestras de mujeres y 277 (24,0%) muestras de hombres para el HSV-2. No se dispuso de información sobre el sexo para cuatro (4) muestras de HSV-1 (0,4%) y cinco (5) muestras de HSV-2 (0,4%). No se espera que el rendimiento del ensayo se vea influido por el sexo.

Una muestra que fue positiva para el HSV con ELVIS no pudo sin embargo ser identificada como HSV-1 o HSV-2 (indeterminada) y no se incluyó en el análisis de rendimiento. Una muestra fue evaluada con células ELVIS contaminadas y no pudo producir un resultado (indeterminada). El ELVIS HSV ID and D^3 Typing Test System no puede detectar el HSV-1 si el HSV-2 ha sido identificado en primer lugar en muestras coinfectadas. Por tanto, si una muestra dio un resultado positivo para HSV-2 con ELVIS fue retirada del cálculo del análisis de rendimiento para HSV-1. Ciento setenta y nueve (179) muestras fueron identificadas como positivas para HSV-2 con ELVIS y fueron retiradas del análisis de datos para HSV-1. Dos muestras fueron identificadas como positivas tanto para HSV-1 como para HSV-2 por ***illumi**gene*, y fueron excluidas de los análisis de rendimiento tanto para HSV-1 como para HSV-2. Las tablas que siguen incluyen el rendimiento de las 975 muestras de HSV-1 y de las 1154 muestras de HSV-2 restantes para todas las localizaciones combinadas.

Localizaciones combinadas: Cutáneas HSV-1 (N=264)

		Método de referencia				Rendimiento			95% CI
		Pos	**Neg**	**Total**	**INV**				
***illumi**gene* HSV 1&2	**Pos**	48	6[a]	54	0	**Sens**	48/51	94,1%	84,1-98,0%
	Neg	3[b]	207	210	0	**Spec**	207/213	97,2%	94,0-98,7%
	Total	51	213	264	0				

[a] 6/6 muestras identificadas como positivas para HSV-1 por un ensayo molecular alternativo autorizado por la FDA.
[b] 1/3 muestras identificadas como negativas para HSV-1 por un ensayo molecular alternativo autorizado por la FDA.

Localizaciones combinadas: Mucocutáneas HSV-1 (N=710)

		Método de referencia				Rendimiento			95% CI
		Pos	**Neg**	**Total**	**INV[a]**				
***illumi**gene* HSV 1&2	**Pos**	152	28[b]	180	0 (1)	**Sens**	152/160	95,0%	90,4-97,4%
	Neg	8[c]	522	530	2 (8)	**Spec**	522/550	94,9%	92,7-96,5%
	Total	160	551	710	9				

[a] 6/9 muestras inicialmente no válidas produjeron resultados positivos o negativos válidos al repetir la prueba; 2/9 no fueron evaluadas de nuevo. Una fue indeterminada con ELVIS.
[b] 19/28 muestras fueron identificadas como positivas para HSV-1 por un ensayo molecular alternativo autorizado por la FDA; 3 muestras no pudieron ser evaluadas.
[c] 7/8 muestras fueron identificadas como negativas para HSV-1 por un ensayo molecular alternativo autorizado por la FDA; 1 muestra no pudo ser evaluada.

Localizaciones combinadas: Cutáneas HSV-2 (N=306)

		Método de referencia				Rendimiento			95% CI
		Pos	**Neg**	**Total**	**INV[a]**				
***illumi**gene* HSV 1&2	**Pos**	42	13[b]	55	0	**Sens**	42/42	100%	91,6-100,0%
	Neg	0	251	251	0 (1)	**Spec**	251/264	95,1%	91,8-97,1%
	Total	42	264	306	1				

[a] 1 muestra inicialmente no válida fue negativa en la repetición.
[b] 8/13 muestras fueron identificadas como positivas para HSV-2 por un ensayo molecular alternativo autorizado por la FDA; 1 muestra no pudo ser evaluada

Combined Sites: HSV-2 Mucocutaneous (N=847)

		Método de referencia				Rendimiento			95% CI
		Pos	Neg	Total	INV[a]				
illumigene HSV 1&2	Pos	135	31[b]	166	0	Sens	135/137	98,5%	94,8-99,6%
	Neg	2[c]	679	681	2 (3)	Spec	679/710	95,6%	93,9-96,9%
	Total	137	710	847	3				

[a] 1/3 resultados inicialmente no válidos fueron negativos al repetir las pruebas.
[b] 24/31 muestras fueron identificadas como positivas para HSV-2 por un ensayo molecular alternativo autorizado por la FDA; 4 muestras no pudieron ser evaluadas.
[c] 1/2 muestras fueron identificadas como negativas para HSV-2 por un ensayo molecular alternativo autorizado por la FDA..

SENSIBILIDAD ANALITICA
La sensibilidad analítica o límite de detección (LdD) se determinó utilizando dos cepas de HSV-1 y dos cepas de HSV-2. El LdD se confirmó utilizando 60 copias y una determinada probabilidad (p. ej., 95%, donde 57/60 copias son positivas) de obtener respuestas positivas.

HSV Strain	$TCID_{50}$/mL
HSV-1 HF (VR-260)	$7{,}20 \times 10^3$
HSV-1 McIntyre (VR-539)	$9{,}89 \times 10^4$
HSV-2 G (VR-734)	$1{,}20 \times 10^3$
HSV-2 MS (VR-540)	$1{,}60 \times 10^3$

El LdD final asignado al ensayo es $9{,}89 \times 10^4$ $TCID_{50}$/mL para HSV-1 y $1{,}60 \times 10^3$ $TCID_{50}$/mL para HSV-2.

Además, veinte (20) muestras clínicas de HSV-1 y veinte (20) muestras clínicas de HSV-2 de diferentes localizaciones anatómicas (esto es, bucal, genital, anorrectal, etc.) fueron evaluadas en el LdD del ensayo para HSV-1 ($9{,}89 \times 10^4$ $TCID_{50}$/mL) y para HSV-2 ($1{,}60 \times 10^3$ $TCID_{50}$/mL). Todas las muestras clínicas fueron detectadas por el ensayo ***illumigene*** HSV 1&2 en el LdD o con un valor inferior, excepto una muestra de HSV-1, que se detectó a $7{,}20 \times 10^7$ $TCID_{50}$/mL

REPRODUCIBILITY
Tres de los siete centros clínicos participantes realizaron estudios de reproducibilidad. Se suministraron paneles con dieciocho (18) muestras codificadas con enmascaramiento a los laboratorios participantes. Las muestras se distribuyeron aleatoriamente dentro de cada panel para enmascarar las identidades de las muestras. Los paneles incluyeron muestras artificiales de HSV-1 (cepa HF) y de HSV-2 (cepa MS) fabricadas como positivas moderadas (HSV-1: $2{,}16 \times 10^4$ $TCID_{50}$/mL o HSV-2: $4{,}80 \times 10^3$ $TCID_{50}$/mL), positivas bajas (HSV-1: $1{,}08 \times 10^4$ $TCID_{50}$/mL o HSV-2: $2{,}40 \times 10^3$ $TCID_{50}$/mL), y dos muestras negativas altas (HSV-1[a]: 308 $TCID_{50}$/mL, HSV-1[b]: 29,7 $TCID_{50}$/mL; HSV-2[a]: 24 $TCID_{50}$/mL, HSV-2[b]: 2,2 $TCID_{50}$/mL). El panel incluía también dos muestras negativas para HSV-1 y HSV-2 y un control positivo y negativo. La prueba fue realizada por diferentes operadores en cada centro el mismo día (variabilidad intraensayo) durante cinco días (variabilidad interensayo). En este estudio se utilizaron tres lotes de ***illumigene*** HSV 1&2 y cinco instrumentos ***illumipro-10***. Se evaluaron los controles positivos y negativos con cada panel. Los resultados aparecen en la tabla que sigue:

Resumen de los estudios de reproducibilidad para el HSV-1								
Tipo de muestra	Centro 1		Centro 2		Centro 3		Centro I	
	Porcentaje de concordancia		Porcentaje de concordancia		Porcentaje de concordancia		Porcentaje de concordancia	
HSV-1 Positiva moderada	30/30	100,0%	30/30	100,0%	30/30	100,0%	90/90	100,0%
HSV-1 Positiva baja	30/30	100,0%	30/30	100,0%	30/30	100,0%	90/90	100,0%
HSV-1 & HSV-2 Negativa alta [a]	20/30	66,7%	26/30	86,7%	20/30	66,7%	66/90	73,3%
HSV-1 & HSV-2 Negativa alta [b]	29/30	96,7%	30/30	100,0%	29/30	96,7%	88/90	97,8%
HSV-1 Negativa	60/60	100,0%	60/60	100,0%	60/60	100,0%	180/180	100,0%
Negative Control	10/10	100,0%	10/10	100,0%	10/10	100,0%	30/30	100,0%
Positive Control	10/10	100,0%	10/10	100,0%	10/10	100,0%	30/30	100,0%

Reproducibility Study Summary for HSV-2								
Tipo de muestra	Site 1		Site 2		Site 3		Total	
	Porcentaje de concordancia		Porcentaje de concordancia		Porcentaje de concordancia		Porcentaje de concordancia	
HSV-2 Positiva moderada	30/30	100,0%	30/30	100,0%	30/30	100,0%	90/90	100,0%
HSV-2 Positiva baja	30/30	100,0%	30/30	100,0%	30/30	100,0%	90/90	100,0%
HSV-1 & HSV-2 Negativa alta [a]	25/30	83,3%	29/30	96,7%	25/30	83,3%	79/90	87,8%
HSV-1 & HSV-2 Negativa alta [b]	29/30	96,7%	30/30	100,0%	29/30	96,7%	88/90	97,8%
HSV-2 Negativa	60/60	100,0%	60/60	100,0%	60/60	100,0%	180/180	100,0%
Negative Control	10/10	100,0%	10/10	100,0%	10/10	100,0%	30/30	100,0%
Positive Control	10/10	100,0%	10/10	100,0%	10/10	100,0%	30/30	100,0%

ESTUDIOS DE REACTIVIDAD CRUZADA

Los estudios de reactividad cruzada utilizaron muestras positivas (cepa HF del HSV-1 y cepa MS del HSV-2) y negativas inoculadas con bacterias u hongos a una concentración mínima de 1,0 x 10^6 UFC/mL (1,0 x 10^6 copias/mL cuando se utilizó ADN genómico) o virus a una concentración mínima de 1,0 x 10^5 $TCID_{50}$/mL (1,0 x 10^6 copias/mL cuando se utilizaron ADN o ARN genómicos). Ninguno de los microorganismos siguientes, o su material genético, reaccionaron con ***illumi****gene* HSV 1&2:

Adenovirus, Coronavirus, Coxsackievirus, Cytomegalovirus, Echovirus, Enterovirus, Epstein Barr virus, Influenza A virus, Influenza B virus, Hepatitis B virus, Hepatitis C virus, Human herpes 6 virus, Human herpes 7 virus, Human herpes 8 virus, Human immunodeficiency virus type 1, Human metapneumovirus, Human papilloma virus, virus del sarampión, virus de las paperas, Parainfluenza virus, virus sincitial respiratorio, Rubella virus, Varicella zoster virus.

El ADN genómico humano fue no reactivo a una concentración de 1,0 x 10^6 copias/mL. No existió inhibición competitiva entre los virus HSV-1 y HSV-2 en el ensayo ***illumi****gene* HSV 1&2.

PRUEBAS PARA SUSTANCIA INTERFERENTES

Se realizaron pruebas de interferencia en presencia de sustancias químicas y biológicas a las concentraciones más desfavorables introducidas directamente en muestras artificiales positivas (cepas HSV-1: McIntyre y HF; cepas HSV-2: G y MS) y negativas. No se observaron interferencias con las siguientes sustancias:

1) A concentraciones del 7% w/v o v/v: Abreva® (docosanol 10%), Balneol® Hygienic Cleansing Lotion, Carmex® Original Lip Balm (alcanfor 1,7%, mentol 0,7%), Desitin® (óxido de cinc 40%), Douche (CVS Pharmacy® Disposable), dentífrico con flúor (Crest®, fluoruro de sodio 0,243%), K-Y® Brand Jelly, Lanacane® (cloruro de bencetonio 0,2%, benzocaína 20%), Lip Clear® Lysine+® (óxido de cinc 1,2%), Miconazole 3 (CVS™ Yeast Infection Relief: miconazol nitrato 2%), enjuague bucal (Listerine® Original: eucaliptol 0,092%, mentol 0,042%, salicilato de metilo 0,060%, timol 0,064%), Preparation H®, Hemorrhoidal Ointment (aceite mineral 14%, vaselina 74,9%, fenilefrina hidrocloruro 0,25%), Releev® (cloruro de benzalconio 0,13%), tioconazol, Vagisil® Regular Strength (benzocaína 5%, resorcinol 2%), Yeast Guard® Gel Treatment (Candida albicans, 27X HPUS; Candida parapsilosis, 27X HPUS; Pulsatilla, 27X HPUS), heces, líquido seminal, orina, sangre completa.
2) A concentraciones de: 60 µg/mL – moco (mucina, glándula submaxilar bovina tipo I-S); 1,25 mg/mL – almidón de maíz; 3,3 mg/mL – albúmina; 5 mg/mL – paracetamol, caseína, clorfenamina maleato; 7 mg/mL – aciclovir; 10 mg/mL – ácido acetilsalicílico, bromhidrato de dextrometorfano.

Se constató que la caseína a una concentración mayor de 5 mg/mL interfiere en el ensayo.

Cold-EEZE® Cold Remedy plus Sore Throat (zincum gluconicum 2X) se evaluó al 7% v/v y produjo resultados no válidos en todas las copias.

DEUTSCH

illumigene®

HSV 1&2
DNA Amplification Assay

DNS-Amplifikationstest zum Nachweis von Herpes-Simplex-Virustyp 1 und Herpes-Simplex-Virustyp 2.

REF **280650** IVD **In-vitro-Diagnostikum** **R_x Only**

VERWENDUNGSZWECK
Der *am **illumi**pro-10™ durchgeführte **illumi**gene* HSV 1&2 DNS-Amplifikationstest, ist ein qualitativer in-vitro-Diagnosetest für den direkten Nachweis und die Differenzierung von Herpes-Simplex-Virustyp 1 (HSV-1) und Herpes-Simplex-Virustyp 2 (HSV-2) in Proben aus kutanen und mukokutanen Läsionen.

***illumi**gene* HSV 1&2 verwendet die Technologie der „Loop-mediated Isothermal DNA Amplification" (LAMP) [1, 2], um HSV-1 und HSV-2 durch gezielte Amplifikation spezifischer Genomabschnitte von Herpes-Simplex-Virus 1 und Herpes-Simplex-Virus 2 nachzuweisen. Die Ergebnisse von ***illumi**gene* HSV 1&2 helfen bei der Diagnose von HSV-Infektionen in männlichen und weiblichen symptomatischen Patienten.

Für Liquor cerebrospinalis oder für die Diagnose einer HSV-Infektion des zentralen Nervensystems (ZNS) ist ***illumi**gene* HSV 1&2 nicht geeignet. Der Test kann nicht für das pränatale Screening verwendet werden.
Der Assay ist für den Einsatz in medizinischen Laboren, staatlichen Laboren oder Referenzlaboren vorgesehen. Der Test ist nicht für eine außerhalb des Labors durchgeführte „Point-of-Care-Diagnostik" (am Krankenbett, Arztpraxis) geeignet.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG DES TESTS
***illumi**gene* HSV 1&2 basiert auf der Technologie der „Loop-mediated Isothermal Amplification" (LAMP)[1, 2]. In zwei getrennten Testansätzen werden jeweils spezifische Genomabschitte von HSV-1 und HSV-2 amplifiziert.
Die Zielsequenz von HSV-1 ist ein 208 Basenpaare (bp) großes Stück des Gens HSV-1-Glykoprotein-G (US4). Zum Nachweis des HSV-2 dient eine 189 bp große Sequenz des GensHSV-2-Glykoprotein-G (US4).

Bei der „Loop-mediated Isothermal Amplification" werden spezielle Primer verwendet, um eine spezifische und kontinuierliche isotherme DNS-Amplifikation zu erzielen. Ein Nebenprodukt der Amplifikation ist Magnesiumpyrophosphat, das einen weißen Niederschlag bildet, wodurch eine trübe Reaktionslösung entsteht. Die Absorption- der Reaktionslösung wird vom Meridian-Inkubator/-Lesegerät ***illumi**pro-10* überwacht. Die durch den Niederschlag von Magnesiumpyrophosphat erzeugte Trübung der Reaktionslösung deutet auf die Anwesenheit der Ziel-DNS hin. Die Abwesenheit von Ziel-DNS bewirkt keine signifikante Änderung der Absorption des Probenmaterials.

Der ***illumi**gene* HSV 1&2-Kit enthält den ***illumi**gene* Probenvorbereitungsapparat III (SMP PREP III), ***illumi**gene* HSV 1-Analysegefäße, ***illumi**gene* HSV 2-Analysegefäße, Mineralöl, Hitzebehandlungsröhrchen und 50-µL-Transferpipetten. Der zur Probenverdünnung und -vorbereitung verwendete ***illumi**gene* SMP PREP III ist mit einer Tris-gepufferten Lösung gefüllt, die mit Formalin behandelte *E. coli* enthält, die DNS von *Staphylococcus aureus* beinhalten. Das ***illumi**gene* HSV 1- Analysegefäß besteht aus zwei Kammern, die jeweils eine Kugel aus lyophilisiertem Amplifikationsreagenz enthalten: einer TEST-Kammer mit HSV-1-spezifischen Primern und einer KONTROLL-Kammer mit *S. aureus*-spezifischen Primern. Das ***illumi**gene* HSV 2-Analysegefäß besteht aus zwei Kammern, die jeweils eine Kugel aus lyophilisiertem Amplifikationsreagenz enthalten: einer TEST-Kammer mit HSV-2-spezifischen Primern und einer KONTROLL-Kammer mit *S. aureus*-spezifischen Primern. Zusammen funktionieren die *S. aureus*-DNS im Probenvorbereitungsapparat SMP PREP III und die *S. aureus*-spezifischen Primer in der KONTROLL-Kammer im Analysegefäß als interne Kontrolle für den Assay. Während der Probenvorbereitung wird jede Patientenprobe in den Probenvorbereitungsapparat III gegeben und so vor der Amplifikation mit der *S. aureus*-DNS kombiniert. Die Zugabe von der *S. aureus*-DNS zur Patientenprobe ermöglicht die parallele Verarbeitung von Ziel-DNS und Kontroll-DNS durch Amplifikation und Detektion. Die Amplifikationsinhibition, die Qualität der Reagenzien und die Effizienz der Probenverarbeitung werden von der internen Kontrolle überwacht. Das Kontroll-*S. aureus*-Ziel muss amplifiziert und in der endgültigen Reaktion auswertbar sein, oder der Test wird als ungültig erachtet und die Patientenergebnisse werden verworfen.

Zur Überwachung der Änderungen der Absorptionsmerkmale misst der ***illumi**pro-10* den Lichtdurchlass durch die Test- und Kontroll-Reaktionslösungen. Der Lichtdurchlass wird zu Beginn des Testdurchlaufs ($Signal_{initial}$, S_i) und am Ende des Testdurchlaufs ($Signal_{final}$, S_f) des Assays kontrolliert. Die Änderung des Lichtdurchlasses zwischen Ende und Beginn des Durchlaufs (S_f:S_i) wird vom ***illumi**pro-10* gemessen, und das Verhältnis wird mit einem festgelegten Cutoff-Wert verglichen.

Die Probenergebnisse werden anhand festgelegter Cutoff-Werte für die TEST-Kammer gemeldet. S_f:S_i-Verhältnisse der TEST-Kammer von weniger als 82% werden als „POSITIV", S_f:S_i-Verhältnisse der TEST-Kammer, größer als oder gleich 82% werden als „NEGATIV" gemeldet. *Es werden keine numerischen Werte ausgegeben.*

Die Gültigkeit wird anhand fester Cutoff-Werte für die KONTROLL-Kammer beurteilt. S_f:S_i-Verhältnisse der KONTROLL-Kammer von weniger als 90% werden für gültig erachtet und lassen die Meldung der Ergebnisse der TEST-Kammer zu (POSITIV, NEGATIV). S_f:S_i-Verhältnisse der KONTROLL-Kammer größer als oder gleich 90% werden für ungültig erachtet und verhindern die Meldung der Ergebnisse der TEST-Kammer. Ungültige Ergebnisse für die KONTROLL-Kammer werden als „UNGÜLTIG" gemeldet. *Es werden keine numerischen Werte gemeldet.*

Die Cutoff-Kriterien für die KONTROLL-Kammer-Reaktion sind strenger, um zu gewährleisten, dass die Amplifikation nicht gehemmt wird, dass die Reagenzien bestimmungsgemäß funktionieren und dass die Probenverarbeitung sachgemäß durchgeführt wurde.

BIOLOGISCHE PRINZIPIEN

Das Herpes-Simplex-Virus verursacht chronische, rezidivierende Infektionen und virale Meningitis bei Erwachsenen und Kindern. Eine Infektion mit Herpes-Simplex-Virustyp 1 (HSV-1) ist relativ häufig, mit einer gesamten Seroprävalenz von circa 54% der Bevölkerung der Vereinigten Staaten.[3] Herpes-Simplex-Virustyp 2 (HSV-2) ist die primäre Ursache von Genitalherpes. Es wird geschätzt, dass 50 Millionen Menschen in den USA und >400 Millionen Menschen weltweit mit HSV-2-Genitalherpes oder etwa 1 von 5 Menschen infiziert sind.[4, 5] Obwohl sowohl HSV-1 oder HSV-2 orale oder genitale Infektionen auszulösen vermögen, ist HSV-1 in der Regel mit oralen Läsionen und HSV-2 in der Regel mit genitalen Läsionen verbunden. Allerdings steigt die Häufigkeit der genitalen HSV-1-Infektion.[3, 6] Eine HSV-Übertragung auf Neugeborene kann während der Geburt auftreten und verursacht Symptome, die von einer disseminierten Erkrankung (ZNS und viszerale Organe) bis hin zur Infektion der Haut, Augen und Mund reichen.[7]

Eine HSV-Infektion kann mit Mikroskopie, Zellkultur, molekularen und serologische Methoden diagnostiziert werden;[8] dabei sind eine Zellkultur und PCR die bevorzugten diagnostischen Methoden, die auch von den „Centers for Disease Control (CDC)" empfohlen werden.[4] Die Sensitivität der Virenkultur ist aufgrund der begrenzten Menge lebensfähiger Viren gering, insbesondere bei wiederkehrenden oder heilenden Läsionen.[4] Der HSV-Typ kann nicht direkt aus der Virenkultur bestimmt werden, sondern erfordert zusätzliche Typisierungsmethoden (z. B. ELVIS).[8] NAAT-Methoden sind empfindlicher als die Kultur, bieten die Möglichkeit, zwischen HSV-Arten zu unterscheiden, und liefern schnelle Ergebnisse.[8]

REAGENZIEN/ENTHALTENE MATERIALIEN

Die Höchstzahl der mit diesem Testkit durchführbaren Tests ist auf der Aussenseite der Packung angegeben.

1. ***illumi****gene*-**Probenvorbereitungsapparat III (SMP PREP III):** Tris-gepufferte Lösung mit Formalin-behandelten *E. coli*, die *S. aureus*-DNS beinhalten; die Lösung enthält Natriumazid (0,09%) als Konservierungsmittel.
2. ***illumi****gene* **HSV 1-Analysegefäß:** Gefäß mit zwei Kammern, das lyophilisierte Amplifikationsreagenzien (DNS-Polymerase, Deoxynucleotidtriphosphate) und entweder HSV-1-spezifische Primer (TEST-Kammer) oder *S. aureus*-spezifische Primer (KONTROLL-Kammer) enthält**.**
3. ***illumi****gene* **HSV 2-Analysegefäß:** Gefäß mit zwei Kammern, das lyophilisierte Amplifikationsreagenzien (DNS-Polymerase, Deoxynucleotidtriphosphate) und entweder HSV-2-spezifische Primer (TEST-Kammer) oder *S. aureus*-spezifische Primer (KONTROLL-Kammer) enthält**. Das *illumi****gene*** **HSV 2-Analysegefäß ist visuell durch ein orangefarbenes Band auf der Verschlusslasche des Analysegefäßesgekennzeichnet.**
4. **Mineralöl** (Flasche mit Tropfspitze)
5. ***illumi****gene*-**Hitzebehandlungsröhrchen**
6. **Transferpipetten**

SEPARAT GELIEFERTE MATERIALIEN

illumi*gene* Externes HSV 1&2-Kontroll-Kit, Bestellnummer: 279960

BENÖTIGTE, ABER NICHT ENTHALTENE MATERIALIEN

1. Einweg-Latexhandschuhe, ungepudert
2. DNase/RNase-freie, aerosolbeständige Pipettenspitzen
3. Virales Transportmedium: MicroTest™ M4®, MicroTest™ M4RT®, MicroTest™ M6™, UniTranz-RT™ Transportsystem, Copan UTM™ Viruskollektion, HealthLink® UTM oder identisches Transportmedium*, BD Universal Viral Transport Medium (UVT), ViraTrans™ VTM, Hardy Diagnostics VTM.
   ** HealthLink UTM ist äquivalent zu Quest V-C-M Medium*

NICHT MITGELIEFERTE AUSTÜSTUNG

1. Heizblock zur Erhitzung auf 95 C
2. Digitalthermometer mit max-/min-Temperaturspeicher (z.B. wasserdichtes/stoßfestes Thermometer, wie-Traceable® Lollipop™)
3. Vortex-Mixer
4. Intervall-Stoppuhr
5. 50 µL-Mikropipette
6. ***illumi****pro-10,* Bestellnummer von Meridian Bioscience, Inc.: 610172

VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Alle Reagenzien sind ausschließlich in der In-vitro-Diagnostik einzusetzen.
2. Virale Transportmedien, die Proteinstabilisatoren wie MicroTest™ M5® und Kalzium-Alginat-Tupfer enthalten, sind für die ***illumi****gene* HSV 1&2-Probensammlung und den Transport nicht geeignet.
3. Keine Probenvorbereitungsapparate oder Analysegefäße unterschiedlicher Chargen verwenden. Die Hitzebehandlungsröhrchen sind austauschbar, sofern sie innerhalb des angegebenen Verfallsdatums verwendet werden.
4. Befolgen Sie bei den Untersuchungen die Biosicherheitsstufe 2 und eine gute Laborpraxis.[9] Behandeln Sie alle Proben und gebrauchte Testsysteme so als könnten sie infektiöse Erreger übertragen. In den Bereichen, in denen die Proben und Reagenzien der Kits bearbeitet werden, darf weder gegessen, noch getrunken oder geraucht werden.
5. Bei der Handhabung der Proben sind Einweghandschuhe zu tragen. Nach der Arbeit sind die Hände gründlich zu waschen.
6. Qualitätskontrollprogramme für Laboratorien, die molekulare Tests durchführen, einschließlich richtiger Gebrauch und Pflege der Ausrüstung, sollten angewendet werden.[10]
7. Die ***illumi****gene* HSV 1&2-Analysegefäße enthalten lyophilisierte Reagenzien. Der Schutzbeutel darf erst dann geöffnet werden, wenn der Assay durchgeführt wird.
8. Die ***illumi****gene* HSV 1&2-Analysegefäße sind mit einer Verschlußlasche ausgestattet, um eine Kontamination des Testbereichs mit dem Amplifikationsprodukt zu verhindern. Analysegefäße mit defekter Verschlußlasche NICHT verwenden.
9. Gebrauchte ***illumi****gene* HSV 1&2-Analysegefäße sofort nach Gebrauch entsorgen und die Verschlußlasche sorgfältig einrasten lassen. Nach der Verwendung das Analysegefäß NICHT öffnen. Das Öffnen des Gefäßes nach der Amplifikation kann zu einer Kontamination des Testbereichs mit dem Amplifikationsprodukt führen.

GEFÄHDUNGEN UND SICHERHEITSANGABEN

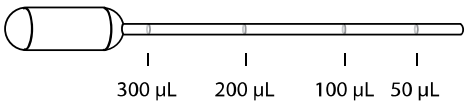
Es gibt keine bekannten Gefahren die mit diesem Produkt verbunden sind.

HALTBARKEIT UND LAGERUNG

Das Verfallsdatum ist auf dem Etikett des Kits angegeben. Kit bei 2-30 C aufbewahren.

HINWEISE ZUR DURCHFÜHRUNG

Die im ***illumi****gene* HSV 1&2-Kit enthaltene Transferpipette ist einzeln verpackt und kann 50 µL abgeben. Die Pipette ist unten dargestellt.



VORBEREITUNG DER REAGENZIEN
Stellen Sie sicher, dass Kitreagenzien vor Gebrauch Raumtemperatur (19-30 C) erreicht haben. Werden die Reagenzien vor Gebrauch nicht auf Raumtemperatur gebracht, kann dies zu falschen Ergebnissen führen.

PROBENNAHME UND-VORBEREITUNG
Probentyp: Humane kutane und mukokutane Läsionsabstrichproben in viralen Transportmedien. Die folgenden viralen Transportmedien sind für die Verwendung zulässig: MicroTest™ M4®, MicroTest™ M4RT®, MicroTest™ M6™, UniTranz-RT™ Transportsystem, Copan UTM™ Viruskollektion, HealthLink® UTM oder identisches Transportmedium*, BD Universal Viral Transport Medium (UVT), ViraTrans™ VTM, Hardy Diagnostics VTM.
** HealthLink UTM ist äquivalent zu Quest V-C-M Medium*

HINWEIS: Virale Transportmedien mit Proteinstabilisatoren, z. B. MicroTest™ M5® und Kalzium-Alginat-Tupfer sind als Probentypen nicht für die Analyse geeignet.

Probennahme: Die Gewinnung von kutanen und mukokutanen Läsionsabstrichen sollte im Einklang mit den Richtlinien der Einrichtung zur Gewinnung von klinischen Proben für die Kultivierung von Herpes-Simplex-Viren erfolgen.

Platzieren Sie den/die Abstriche in einem viralen Transportmedium. Proben sollten nach der Entnahme und beim Transport zum Labor gekühlt (2–8 C) gelagert werden. Proben sollten so bald wie möglich getestet werden, können aber unter Umständen unter Kühlung (2–8 C) bis zu 7 Tage vor dem Test gelagert werden. Die Proben nicht einfrieren.

PROBENVORBEREITUNG
HINWEIS: Achten Sie darauf, dass das ***illumi****pro-10*™ Gerät eingeschaltet ist und die erforderlichen Leistungsüberprüfungen vor Beginn der PROBENVORBEREITUNG durchgeführt wurden. Weitere Informationen zur Einrichtung und zum Betrieb des Geräts finden Sie im ***illumi****pro-10*™ –Benutzerhandbuch.

HINWEIS: Stellen Sie sicher, dass die Proben vor der Vorbereitung Raumtemperatur (19–30 C) erreicht haben.

1. Vortexen Sie den abgenommenen Abstrich ca. 45–60 Sekunden im Transportmedium.
2. Übertragen Sie mit der Transferpipette 50 µL des Abstrichmediums in einen ***illumi****gene* SMP PREP III. Entsorgen Sie die Transferpipette. Beschriften Sie die SMP PREP III mit der Probenkennzeichnung.
3. Verschließen Sie den SMP PREP III wieder und vortexieren Sie ihn ca. 10 Sekunden lang.
4. Entfernen Sie die Spitzenkappe vom SMP PREP III, und drücken Sie den gesamten Inhalt des SMP PREP III in ein Hitzebehandlungsröhrchen. Beschriften Sie das Röhrchen mit der Probenkennzeichnung.
5. Wiederholen Sie die Probenvorbereitungsschritte für alle zu verarbeitenden Proben. Verarbeitete Proben können vor der Hitzebehandlung bis zu 2 Stunden bei Raumtemperatur (19–30 C) aufbewahrt werden.
6. Erhitzen Sie jedes Hitzebehandlungsröhrchen 10 ± 2 Minuten lang in einem Trockenbad/Heizblock bei 95 ± 5 C. Überwachen Sie den Hitzebehandlungsschritt mit dem Digitalthermometer und der Intervall-Stoppuhr.
7. Nehmen Sie jedes Hitzebehandlungsröhrchen aus dem Trockenbad/Heizblock. Wärmebehandelte Proben können bis zu 15 Minuten vor dem Test bei Raumtemperatur (19–30 C) aufbewahrt werden.

HINWEIS: Die Menge der Probe am Ende der Probenvorbereitung ist ausreichend, um beide ***illumi****gene* HSV-1- und HSV-2-Tests zu befüllen.

TESTDURCHFÜHRUNG
HINWEIS: In einem Durchlauf können im ***illumi****pro-10*™ maximal 5 Proben für HSV 1 und HSV 2 verarbeitet werden. **HSV 2-Analysegefäße sind visuell durch ein orangefarbenes Band auf der Verschlusslasche des Analysegefäßes gekennzeichnet**
1. Vortexen Sie die hitzebehandelten Proben etwa 10 Sekunden lang.
2. Verwenden Sie jeweils 1 ***illumi****gene* HSV-1-Analysegefäß und 1 ***illumi****gene* HSV 2-Analysegefäß pro Probe. Entfernen Sie die Analysegefäße aus ihrem Schutzbeutel. Öffnen Sie vorsichtig das Gefäß und halten Sie die Kammern so, dass das lyophilisierte Reagenz beim Öffnen nicht herausfällt. Das Gefäß auf einer ebenen Fläche oder einem passenden Gestell platzieren.
3. Übertragen Sie jeweils mit einer neuen Mikropipette 50 µL der Probe in die TEST- (weiße Kugel) und in die KONTROLL-Kammer (gelbe Kugel) der HSV-1 und HSV-2-Analysegefäße. Vermeiden Sie Luftblasen im Reaktionsgemisch.
4. Fügen Sie jeweils 1 Tropfen Mineralöl zur TEST- und KONTROLL-Kammer der ***illumi****gene*-HSV 1- und HSV 2-Analysegefäße hinzu. Schließen Sie die ***illumi****gene*-Analysegefäße und fixieren Sie die Verschlusslasche sorgfältig.
5. Klopfen Sie das Gefäß leicht auf die Arbeitsfläche auf oder schwenken Sie es, um Luftblasen zu entfernen. Überprüfen Sie bei jedem Analysegefäß sorgfältig, ob die KONTROLL-/TEST-Kugeln vollständig aufgelöst sind, ob Luftblasen im Röhrchen sind oder ob sich Flüssigkeit am Deckel befindet. Falls die Kugeln nicht vollständig gelöst sind, Luftblasen oder Flüssigkeit am Deckel zu erkennen sind, klopfen Sie das Gefäß vorsichtig auf die Arbeitsfläche und wiederholen Sie die Sichtkontrolle. Die Amplifikation und Detektion sollte innerhalb von 15 Minuten initiiert werden.
6. Wiederholen Sie die Schritte des TESTVERFAHRENS für alle zu testenden Proben.
7. Geben Sie jedes ***illumi****gene* Analysegefäß in das ***illumi****pro-10*™-Gerät und starten Sie den Lauf. Die Ergebnisse werden am Ende des Laufs angezeigt.

AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

Proben-ID	Ausgegebenes Ergebnis	Interpretation
Patientenprobe	**POSITIV**	**HSV 1-Analysegefäß:** Probe enthält HSV-1-Ziel-DNS. **HSV 2-Analysegefäß:** Probe enthält HSV-2-Ziel-DNS.
	NEGATIV	**HSV 1-Analysegefäß:** Keine HSV 1-Ziel-DNS erkannt. **HSV 2-Analysegefäß:** Keine HSV 2-Ziel-DNS erkannt.
	UNGÜLTIG	**Kein angezeigtes Ergebnis. Wiederholen Sie den Test unter Verwendung der originalen Patientenprobe.** Inhibitorische Patientenprobe, unsachgemäße Probenvorbereitung, Reagenzversagen, Instrumentenversagen oder interner Kontrollfehler.
Positivkontrolle	**POSITIV**	Gültiges positives Kontrollergebnis. Reagenzien, die zum Zeitpunkt der Verwendung aktiv sind, funktionieren mit dem, ***illumi****pro-10* korrekt.
	NEGATIV	**Falsches Kontrollergebnis.** Wiederholen Sie den Kontrolltest als ersten Schritt zur Bestimmung der Fehlerquelle. Sollte sich Kontrollfehler wiederholen, wenden Sie sich bite an den technischen Service von Meridian unter +1-800-343-3858 (USA) oder an Ihren Vertriebshändler vor Ort.
	UNGÜLTIG	**Kein angezeigtes Ergebnis.** Wiederholen Sie den Kontrolltest als ersten Schritt zur Bestimmung der Fehlerquelle. Sollte sich Kontrollfehler wiederholen, wenden Sie sich bite an den technischen Service von Meridian unter +1-800-343-3858 (USA) oder an Ihren Vertriebshändler vor Ort. Falsche Probenvorbereitung, Reagenzversagen, Instrumentenversagen oder interner Kontrollfehler.
Negativkontrolle	**POSITIV**	**Falsches Kontrollergebnis.** Wiederholen Sie den Kontrolltest als ersten Schritt zur Bestimmung der Fehlerquelle. Sollte sich Kontrollfehler wiederholen, wenden Sie sich bite an den technischen Service von Meridian unter +1-800-343-3858 (USA) oder an Ihren Vertriebshändler vor Ort.
	NEGATIV	Gültiges negatives Kontrollergebnis. Reagenzien, die zum Zeitpunkt der Verwendung aktiv sind, funktionieren mit dem, ***illumi****pro-10* korrekt.
	UNGÜLTIG	**Kein angezeigtes Ergebnis.** Wiederholen Sie den Kontrolltest als ersten Schritt zur Bestimmung der Fehlerquelle. Sollte sich Kontrollfehler wiederholen, wenden Sie sich bite an den technischen Service von Meridian unter +1-800-343-3858 (USA) oder an Ihren Vertriebshändler vor Ort. Falsche Probenvorbereitung, Reagenzversagen, Instrumentenversagen oder interner Kontrollfehler.
LEERE Vertiefung	**KEINER**	Kein ***illumi****gene*-Analysegefäß in der ***illumi****pro-10*-Vertiefung. **ODER** Die Auswertung des vorhandenen ***illumi****gene*-Analysegefäßes ist aufgrund fehlerhafter Probenvorbereitung, verunreinigtem Gefäß oder falsch aufgestelltem Gefäß beeinträchtigt. **Wiederholen Sie den Test unter Verwendung der ursprünglichen Proben.**

QUALITÄTSKONTROLLE

Den Test gemäß der einschlägigen lokalen, bundesstaatlichen oder nationalen bzw. zulassungsbehördlichen Auflagen durchführen.

1. Jedes Gefäß enthält eine interne Kontrolle, die die Amplifikationsinhibition, Qualität der Reagenzien und die Effizienz der Probenverarbeitung überwacht. Die DNS der internen Kontrolle ist im Reagenz des SMP PREP III vorhanden und wird in allen Verfahrensschritten mit verarbeitet. Die Primer für die Amplifikation der internen Kontroll-DNS befinden sich in der Kontrollkammer des ***illumi****gene*-Analysegefäßes.
2. Der Hitzebehandlungsschritt wird mit einem externen Thermometer und einer Intervall-Stoppuhr überwacht. Verwenden Sie den max-/min-Temperaturspeicher des Thermometers, um sicherzustellen, dass eine Temperatur von 95 ± 5 C beibehalten wird. Verwenden Sie die Intervall-Stoppuhr, um sicherzustellen, dass die Dauer der Hitzebehandlung 10 ± 2 Minuten beträgt.
3. Die Regeln der guten Laborpraxis empfehlen den Einsatz von Kontrollmaterialien. Anwender sollten die entsprechenden bundesstaatlichen, staatlichen und kommunalen Richtlinien zur Mitführung von externen Qualitätskontrollen befolgen.
4. ***Die externen Kontrollreagenzien für illumi****gene* HSV 1&2 sind separat erhältlich t (Bestellnr. 279960). Es wird empfohlen, die Reaktivität jeder neuen Charge und jeder neuen Lieferung von ***illumi****gene* HSV 1&2 bei Empfang und vor Gebrauch zu überprüfen. Externe Kontrolltests sind danach gemäß bundestaatlichen, staatlichen und kommunalen Richtlinien sowie der zulassungsbehördlichen Auflagen durchzuführen. Das ***illumi****gene* HSV 1&2-Testkit sollte nicht für Tests an Patientenproben verwendet werden, wenn die externen Kontrollen nicht die richtigen Ergebnisse erzeugen.
5. Für jedes externe Kontrollreagenz muss ein separates Analysegefäß verwendet werden.

ERWARTETE WERTE

Die Prävalenz von HSV-1 und HSV-2 wurde 2014–2015 in klinischen Studien basierend auf dem Alter des Patienten und nach anatomischer Position der Läsion berechnet. Die allgemeine Inzidenz während der Studie lag bei 24,2 % (236/975) für HSV-1 und bei 19,4 % (224/1154) für HSV-2. Spezifische Prävalenzdaten sind unten angegeben.

Kombinierte Studie – kutane Prävalenz nach anatomischer Lage der Probe (N=306)						
Quelle	**HSV 1**			**HSV 2**		
	Gesamtzahl	**Insgesamt positiv**	**Prävalenz**	**Gesamtzahl**	**Insgesamt positiv**	**Prävalenz**
Hautläsion	92	7	7,6%	92	28	30.4%
Genital – Penis	214	47	22,0%	214	27	12.6%
Kombinierte Studie – mukokutane Prävalenz nach anatomischer Lage der Probe (N=852)						
Quelle	**HSV-1**			**HSV-2**		
	Gesamtzahl	**Insgesamt positiv**	**Prävalenz**	**Gesamtzahl**	**Insgesamt positiv**	**Prävalenz**
Anorektal	47 (1*)	7	14,9%	46 (2*)	9	19,6%
Genital – Vaginal/Zervikal	624 (2*)	112	17,9%	626	158	25,2%
Nasal	18	9	50,0%	18	0	0,0%
Okulär	20	0	0,0%	20	0	0,0%
Orale Läsion	135	53	39,3%	135	2	1,5%
Urethral	5	1	20,0%	5	0	0,0%

* Anzahl der Proben mit ungültigen ***illumi****gene*-Ergebnissen

Kombinierte Studie – kutane Prävalenz nach Alter (N=306)						
Alter	**HSV-1**			**HSV-2**		
	Gesamtzahl	**Insgesamt positiv**	**Prävalenz**	**Gesamtzahl**	**Insgesamt positiv**	**Prävalenz**
≤5Jahre	38	12	31,6%	38	1	2,6%
6 bis 12 Jahre	16	7	43,8%	16	1	6,3%
12 bis 22 Jahre	59	15	25,4%	59	9	15,3%
22 bis 59 Jahre	156	17	10,9%	156	31	19,9%
≥ 60 Jahre	37	3	8,1%	37	13	35,1%
Nicht zur Verfügung gestellt	0	0	0,0	0	0	0,0
Kombinierte Studie – mukokutane Prävalenz nach Alter (N=852)						
Alter	**HSV-1**			**HSV-2**		
	Gesamtzahl	**Insgesamt positiv**	**Prävalenz**	**Gesamtzahl**	**Insgesamt positiv**	**Prävalenz**
≤ 5 Jahre	47	8	17,0%	47	0	0,0%
6 bis 12 Jahre	16	1	6,3%	16	0	0,0%
12 bis 22 Jahre	208 (1*)	58	27,9%	209	53	25,4%
22 bis59 Jahre	512 (1*)	98	19,1%	513	105	20,5%
≥ 60 Jahre	63 (1*)	17	27,0%	63 (1*)	11	17,5%
Nicht zur Verfügung gestellt	3	0	0,0%	2 (1*)	0	0,0%

* Anzahl der Proben mit ungültigen ***illumi****gene*-Ergebnissen

EINSCHRÄNKUNGEN

1. Die Leistung von ***illumi****gene* HSV 1&2 wurde nur mit prospektiven männlichen und weiblichen, kutanen und mukokutanen Läsionsproben überprüft. Die Leistung mit anderen Probentypen (gefrorene Proben oder Liquor wurde nicht überprüft.
2. Der Assay ist nicht für das pränatale Screening vorgesehen.
3. Eine Medikation mit dem Wirkstoff Zinkgluconat liefert mit ***illumi****gene* HSV 1&2 ungültige Ergebnisse bei 7 % V/V. Die Konzentration des getesteten Zinkgluconats ist viel höher im Vergleich zu der erwarteten Konzentration von Zinkgluconat, das in klinischen Proben vorhanden ist; niedrigere Konzentrationen wurden nicht getestet. Die Wirkung von Zinkgluconat auf die ***illumi****gene* HSV 1&2-Testergebnisse wurde nicht mit klinischen Proben getestet.
4. Es wurde festgestellt, dass Kasein in Konzentrationen über 5 mg/mL den ***illumi****gene* HSV 1&2-Assay beeinträchtigt.
5. Dieses Produkt kann nur mit dem ***illumi****pro-10*™ Instrument verwendet werden.

6. *Beim **illumi**gene* HSV 1&2 handelt es sich um einen qualitativen Assay, der keine quantitativen Ergebnisse oder Informationen zur Belastung mit den Organismen liefert.
7. Die Detektion von Nukleinsäuren hängt von der einwandfreien Probennahme sowie Handhabung, Transport, Lagerung und Vorbereitung ab. Fehler in einem der genannten Schritte kann zu falschen Ergebnissen führen.
8. Die Nukleinsäuren des Organismus können unabhängig von der Lebensfähigkeit des Organismus *in vivo* fortbestehen. Der Assay ***illumi**gene* HSV 1&2 unterscheidet nicht zwischen lebensfähigen und nicht-lebensfähigen Organismen.
9. Wie bei allen anderen diagnostischen Tests auf molekularer Grundlage können (A) falsch-negative Ergebnisse infolge der Präsenz von Inhibitoren, technischen Fehlern, Vertauschen der Proben und geringer Organismenanzahl in der klinischen Probe entstehen, (B) falsch-positive Ergebnisse infolge der Präsenz einer Kreuzkontamination mit Zielorganismen, deren Nukleinsäuren oder dem amplifizierten Produkt sowie von nicht-spezifischen Signalen entstehen.

LEISTUNGSMERKMALE

Die Leistungsmerkmale der ***illumi**gene* HSV 1&2 DNS-Amplifikationstests wurden in klinischen Studien zwischen Oktober 2014 und März 2015 in sieben unabhängigen, klinischen Teststandorten bestätigt, die vier geografisch unterschiedliche Regionen in den USA repräsentieren. Leistungsmerkmale des Assays wurden mit der Referenzmethode ELVIS® HSV ID und dem D^3 Typisierungstestsystem verglichen.

Proben enthalten kutane und mukokutane Läsionsabstrichproben von Patienten mit Verdacht auf eine Infektion mit Herpes-Simplex-Virus Typ 1 (HSV-1) oder Typ 2 (HSV-2). Proben, die als kutan eingestuft wurden, umfassten Haut- und genitale Läsionen – Penis. Proben, die als mukokutan eingestuft wurden, umfassten anorektale, genital-vaginale/zervikale, nasale, okuläre, orale und urethrale Positionen.

Insgesamt 1,158 geeignete Restmengen von identifizierungsfreien Läsionsabstrichproben von symptomatischen männlichen und weiblichen Patienten wurden ausgewertet. Die Proben wurden von Patienten im Alter von 1 Tag bis 89 Jahren gesammelt. Insgesamt wurden 723 (74,3%) weibliche und 247 (25,3%) männliche HSV-1-Proben und insgesamt 871 (75,5%) weibliche und 277 (24,0%) männliche HSV-2-Proben getestet. Es gab vier (4) HSV-1 (0,4%) und fünf (5) HSV-2-Proben mit unbekanntem Geschlecht (0,4%). Es wird nicht erwartet, dass das Geschlecht einen Einfluß auf das Testergebnis hat.

Eine Probe war HSV-positiv nach ELVIS, konnte jedoch nicht als HSV-1 oder HSV-2 (unbestimmt) identifiziert werden, und wurde nicht in die Leistungsanalyse aufgenommen. Eine Probe wurde mit kontaminierten ELVIS-Zellen getestet und erbrachte kein Ergebnis (unbestimmt). Das ELVIS HSV ID und D^3-Typisierungstestsystem ist nicht in der Lage, HSV-1 zu erkennen, wenn in koinfizierten Proben zuerst HSV-2 identifiziert wurde. Wenn daher eine Probe nach ELVIS HSV-2-positiv war, wurde sie aus der Berechnung der Leistungsanalyse von HSV-1 entfernt. Einhundertneunundsiebzig (179) Proben wurden nach ELVIS als HSV-2-positiv identifiziert und aus der HSV-1-Datenanalyse entfernt. Zwei Proben wurden als ***illumi**gene*-positiv für HSV-1 und HSV-2 identifiziert, und wurden von der HSV-1- und HSV-2-Leistungsanalyse ausgeschlossen. Die folgenden Tabellen enthalten die Leistung der restlichen 975 HSV-1-Proben und 1.154 HSV-2-Proben, kombiniert für alle Positionen.

Standorte (zusammengefasst): HSV-1 Kutan (N=264)

		Referenzmethode				Leistung			95% CI
		Pos	Neg	Total	INV				
***illumi**gene* HSV 1&2	**Pos**	48	6[a]	54	0	**Sens**	48/51	94,1%	84,1-98,0%
	Neg	3[b]	207	210	0	**Spec**	207/213	97,2%	94,0-98,7%
	Gesamt	51	213	264	0				

[a] 6/6 Proben wurden durch einen alternativen, FDA-zugelassenen Molekulartest als HSV-1-positiv identifiziert.
[b] 1/3 Proben wurden durch einen alternativen, FDA-zugelassenen Molekulartest als HSV-1-negativ identifiziert.

Standorte (zusammengefasst): HSV-1 Mukokutan (N=710)

		Referenzmethode				Leistung			95% CI
		Pos	Neg	Total	INV[a]				
***illumi**gene* HSV 1&2	**Pos**	152	28[b]	180	0 (1)	**Sens**	152/160	95,0%	90,4-97,4%
	Neg	8[c]	522	530	2 (8)	**Spec**	522/550	94,9%	92,7-96,5%
	Gesamt	160	551	710	9				

[a] 6/9 anfänglich ungültige Proben erbrachten bei Wiederholung des Tests gültige positive oder negative Ergebnisse; 2/9 wurden nicht getestet. Einer war ELVIS-unbestimmt.
[b] 19/28 Proben wurden durch einen alternativen, FDA-zugelassenen Molekulartest als HSV-1-positiv identifiziert; 3 Proben konnten nicht getestet werden.
[c] 7/8 Proben wurden durch einen alternativen, FDA-zugelassenen Molekulartest als HSV-1-negativ identifiziert; 1 Probe konnte nicht getestet werden.

Standorte (zusammengefasst): HSV-2 Kutan (N=306)

		Referenzmethode				Leistung			95% CI
		Pos	Neg	Total	INV[a]				
***illumi**gene* HSV 1&2	**Pos**	42	13[b]	55	0	**Sens**	42/42	100%	91,6-100,0%
	Neg	0	251	251	0 (1)	**Spec**	251/264	95,1%	91,8-97,1%
	Gesamt	42	264	306	1				

[a] 1 anfänglich ungültige Probe erbrachte bei Wiederholung das Ergebnis negativ.
[b] 8/13 Proben wurden durch einen alternativen, FDA-zugelassenen Molekulartest als HSV-2-positiv identifiziert; 1 Probe konnte nicht getestet werden.

Standorte (zusammengefasst): HSV-2 Mukokutan (N=847)

		Referenzmethode				Leistung			95% CI
		Pos	Neg	Total	INV[a]				
illumigene HSV 1&2	Pos	135	31[b]	166	0	Sens	135/137	98,5%	94,8-99,6%
	Neg	2[c]	679	681	2 (3)	Spec	679/710	95,6%	93,9-96,9%
	Gesamt	137	710	847	3				

[a] 1/3 anfänglich ungültige Proben erbrachten bei Wiederholung das Ergebnis negativ.
[b] 24/31 Proben wurden durch einen alternativen, FDA-zugelassenen Molekulartest als HSV-2-positiv identifiziert; 4 Proben konnten nicht getestet werden.
[c] 1/2 Proben wurden durch einen alternativen, FDA-zugelassenen Molekulartest als HSV-2-negativ identifiziert.

ANALYTISCHE SENSITIVITÄT
Die analytische Empfindlichkeit oder Nachweisgrenze (LoD) wurden unter Verwendung von jeweils zwei Stämmen von HSV-1 und HSV-2 bestimmt. Die LoD wurde unter Verwendung von mindestens 60 Replikaten und anhand einer angegebenen Wahrscheinlichkeit (z.B. 95%, von denen 57/60 Replikate positiv sind) des Erhalts einer positiven Reaktion bestimmt.

HSV Strain	$TCID_{50}$/mL
HSV-1 HF (VR-260)	$7{,}20 \times 10^3$
HSV-1 McIntyre (VR-539)	$9{,}89 \times 10^4$
HSV-2 G (VR-734)	$1{,}20 \times 10^3$
HSV-2 MS (VR-540)	$1{,}60 \times 10^3$

Die endgültige angegebene Test-LoD beträgt $9{,}89 \times 10^4$ $TCID_{50}$/mL für HSV-1 und $1{,}60 \times 10^3$ $TCID_{50}$/mL für HSV-2.

Zusätzlich wurden zwanzig (20) klinische HSV-1- und zwanzig (20) HSV-2-Proben aus einer Vielzahl von anatomischen Positionen (d.h., oral, genital, anorektal etc.) für die Test-LoD für HSV-1 ($9{,}89 \times 10^4$ $TCID_{50}$/mL) und HSV-2 ($1{,}60 \times 10^3$ $TCID_{50}$/mL) ausgewertet. Alle klinischen Proben wurden durch den ***illumi****gene* HSV 1&2-Assay an der LoD oder niedriger nachgewiesen, außer einer HSV-1-Probe, die bei $7{,}20 \times 10^7$ $TCID_{50}$/mL nachgewiesen wurde.

REPRODUZIERBARKEIT
Von drei der sieben teilnehmenden Studienzentren wurden Reproduzierbarkeitsstudien durchgeführt. Verschlüsselte Panele von achtzehn (18) Proben wurden den teilnehmenden Labors übergeben. Die Proben waren innerhalb jedes Panels nach dem Zufallsprinzip gereiht, um die Probenidentität zu maskieren. Die Panele enthielten künstliche HSV-1 (Stamm-HF)- und HSV-2 (Stamm-MS)-Proben, die als schwach positive Proben hergestellt wurden (HSV-1: $2{,}16 \times 10^4$ $TCID_{50}$/mL oder HSV-2: $4{,}80 \times 10^3$ $TCID_{50}$/mL), schwach positive Proben (HSV-1: $1{,}08 \times 10^4$ $TCID_{50}$/mL oder HSV-2: $2{,}40 \times 10^3$ $TCID_{50}$/mL) oder zwei stark negative Proben (HSV-1[a]: 308 $TCID_{50}$/mL, HSV-1[b]: 29,7 $TCID_{50}$/mL; HSV-2[a]: 24 $TCID_{50}$/mL, HSV-2[b]: 2,2 $TCID_{50}$/mL). Das Panel umfasste auch zwei HSV-1- und HSV-2-negative Proben und eine Positiv- und Negativkontrolle. Die Tests wurden am selben Tag von verschiedenen Bedienern in jeder Einrichtung (Intra-Assay-Variabilität) fünf Tage lang (Inter-Assay-Variabilität) durchgeführt. In dieser Studie wurden drei Chargen von ***illumi****gene* HSV 1&2 und fünf ***illumi****pro-10*™ --Instrumente eingesetzt. An jedem Testtag wurden die Positiv- und Negativkontrollen getestet. Die Ergebnisse sind in der nachstehenden Tabelle dargestellt:

Zusammenfassung der Reproduzierbarkeitsstudie für HSV-1								
Probentyp	Standort 1		Standort 2		Standort 3		Total	
	Übereinstimmung in Prozent		Übereinstimmung in Prozent		Übereinstimmung in Prozent		Übereinstimmung in Prozent	
HSV-1 Mäßig positiv	30/30	100,0%	30/30	100,0%	30/30	100,0%	90/90	100,0%
HSV-1 Schwach positiv	30/30	100,0%	30/30	100,0%	30/30	100,0%	90/90	100,0%
HSV-1 & HSV- Stark negativ	20/30	66,7%	26/30	86,7%	20/30	66,7%	66/90	73,3%
HSV-1 & HSV-2 Stark negativ	29/30	96,7%	30/30	100,0%	29/30	96,7%	88/90	97,8%
HSV-1 Negativ	60/60	100,0%	60/60	100,0%	60/60	100,0%	180/180	100,0%
Negativkontrolle	10/10	100,0%	10/10	100,0%	10/10	100,0%	30/30	100,0%
Positivkontrolle	10/10	100,0%	10/10	100,0%	10/10	100,0%	30/30	100,0%

Zusammenfassung der Reproduzierbarkeitsstudie für HSV-2								
Probentyp	**Standort 1**		**Standort 2**		**Standort 3**		**Total**	
	Übereinstimmung in Prozent		**Übereinstimmung in Prozent**		**Übereinstimmung in Prozent**		**Übereinstimmung in Prozent**	
HSV-2 Mäßig positiv	30/30	100,0%	30/30	100,0%	30/30	100,0%	90/90	100,0%
HSV-2 Schwach positiv	30/30	100,0%	30/30	100,0%	30/30	100,0%	90/90	100,0%
HSV-1 & HSV- Stark negativ [a]	25/30	83,3%	29/30	96,7%	25/30	83,3%	79/90	87,8%
HSV-1 & HSV-2 Stark negativ [b]	29/30	96,7%	30/30	100,0%	29/30	96,7%	88/90	97,8%
HSV-2 Negativ	60/60	100,0%	60/60	100,0%	60/60	100,0%	180/180	100,0%
Negativkontrolle	10/10	100,0%	10/10	100,0%	10/10	100,0%	30/30	100,0%
Positivkontrolle	10/10	100,0%	10/10	100,0%	10/10	100,0%	30/30	100,0%

STUDIEN ZUR KREUZREAKTIVITÄT

Kreuzreaktionsstudien verwendeten positive (HSV-1-Stamm HF und HSV-2-Stamm MS) und negative Proben mit Bakterien und Pilzen mit einer minimalen Konzentration von $1,0 \times 10^6$ CFU/mL ($1,0 \times 10^6$ Kopien/mL inokuliert, wenn Genom-DNS verwendet wurde) oder Virus mit einem Minimum von $1,0 \times 0^5$ $TCID_{50}$/mL ($1,0 \times 10^6$ Kopien/mL, wenn Genom-DNS oder -RNS verwendet wurde). Keiner der folgenden Organismen oder deren genetisches Material reagierte mit ***illumi****gene* HSV 1&2.

Adenovirus, Coronavirus, Coxsackievirus, Zytomegalovirus, Echovirus, Enterovirus, Epstein–Barr-Virus, **Influenza**-**A**-**Virus**, Influenza-B-Virus, Hepatitis–B-Virus, Hepatitis–C-Virus, Humanes Herpesvirus 6, Humanes Herpesvirus 7, Humanes Herpesvirus 8 , Humanes Immundefizienz-Virus 1, Humanes Metapneumovirus, Humanes Papillomvirus, Masernvirus, Mumpsvirus, Parainfluenzavirus, Respiratorische-Synzytial-Viren,Rötelnvirus, Varicella-Zoster-Virus.

Menschliche genomische DNS hatte bis zu $1,0 \times 10^6$ Kopien/mL keinen Einfluss auf die Reaktion. Es gab keine kompetitive Hemmung zwischen HSV-1- und HSV-2-Viren im ***illumi****gene* HSV 1&2-Assay.

STÖRSUBSTANZEN-TESTS

Die Störsubstanzen-Tests wurden mit der am Schlimmsten möglichen auftretenden Konzentration von chemischen und biologischen Substanzen durchgeführt, die direkt in künstlich positive (HSV-1-Stämme: McIntyre und HF; HSV-2-Stämme: G und MS) und negative Proben eingeführt wurden. Es wurde keine Störung bei den folgenden Substanzen beobachtet:

(1) Bei Konzentrationen von 7% M/V oder V/V: Abreva® (10% Docosanol), Balneol® Hygienische Reinigungslotion, Carmex® Original Lippenbalsam (1,7% Kampfer, 0,7% Menthol), Desitin® (40% Zinkoxid), Duschgel (CVS Pharmacy® Einweg), Fluorid-Zahnpasta (Crest®, 0,243% Natriumfluorid), K-Y® Brand Jelly (Gleitmittel), Lanacane® (0,2% Benzethoniumchlorid, 20% Benzocain), Lip Clear® Lysine+® (1,2% Zinkoxid), Miconazole 3 (CVS™ Antimykotikum: 2% Miconazol-Nitrat), Mundspülung (Listerine® Original: 0,092% Eukalyptol, 0,042% Menthol, 0,060% Methylsalizylat, 0,064% Thymol), Preparation H® Hämorrhoidensalbe (14% Mineralöl, 74,9% Vaseline, 0,25% Phenylephrin-Hydrochlorid), Releev® (0,13% Benzalkoniumchlorid), Tioconazol, Vagisil® Normale Stärke (5% Benzocaine, 2% Resorcinol), Yeast Guard® Gelsalbe (Candida albicans, 27X HPUS; Candida parapsilosis, 27X HPUS; Pulsatilla, 27X HPUS), Stuhl, Samenflüssigkeit, Urin, Vollblut.

(2) Bei Konzentrationen von: 60 µg/mL – Schleim (Mucin, bovine Submaxillardrüse Typ I-S); 1,25 mg/mL – Maisstärke; 3,3 mg/mL – Albumin; 5 mg/mL – Acetaminophen, Kasein, Chlorpheniramin-Maleat; 7 mg/mL – Aciclovir; 10 mg/mL – Acetylsalicylsäure, Dextromethorphan-Hydrobromid.

Bei Kasein in Konzentrationen über 5 mg/mL wurde festgestellt, dass es den Test beeinträchtigt.

Medizin gegen Erkältungen und Halsschmerzen (Cold-EEZE®) (Zinkgluconat 2X) wurde mit 7% V/V getestet und ergab ungültige Ergebnisse bei allen Wiederholungen.

REFERENCES

1. Nagamine K, Hase T, Notoni T. Accelerated reaction by loop-mediated isothermal amplifications using loop primers. Mol Cell Probes 2002;16:223-29.
2. Mori Y, Kitao M, Tomita N, Notoni T. Real-time turbidimetry of LAMP reaction for quantitating template DNA. J Biochem Biophys 2004;59:145-47.
3. Bradely H, Markowitz L, Gibson T, McQuillan M. Seroprevalence of herpes simplex virus Types 1 and 2 – United States, 1999-2010. J Infect Dis 2014; 209:325-333.
4. Centers for Disease Control and Prevention, *Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2010*. Morbidity and Mortality Weekly Report, 2010: 59(RR-1220-25).
5. Looker KJ, Margaret AS, Turner KM, Vickerman P, Gottleib SL, Newman LM. Global estimates of prevalent and incident herpes simplex virus type 2 infections in 2012. PLoS ONE 2015; 10(1): e114989. doi:10.1371/journal.pone.0114989.
6. Bernstein DI, Bellamy AR, Hook EW 3rd, Levin MJ, Wald A, Ewell MG, et al. Epidemiology, clinical presentation, and antibody response to primary infection with herpes simplex virus type 1 and type 2 in young women. Clin Infect Dis 2013; 56(3):344-351.
7. Kimberlin DW, Baley J. Guidance on management of asymptomatic neonates born to women with active genital herpes lesions. American Academy of Pediatrics, Pediatrics 2013;131(2):e635-e646.
8. Anderson NW, Buchan BW, Ledeboer NA. Light microscopy, culture, molecular, and serologic methods for detection of herpes simplex virus. J Clin Microbiol 2014;52(1):2-8.
9. US Department of Health and Human Services PHS/CDC/NIH. Biosafety in microbiology and biomedical laboratories, Washington DC: US Government Printing Office, 2007.
10. CLSI: MM3-A2 Molecular diagnostic methods for infectious disease; approved guideline, 2nd ed. Wayne PA: Clinical Laboratory Standards Institute, 2006.

CE

SN11107 **REV. 05/15**

Manufactured By

Meridian Bioscience, Inc.
USA/Corporate Office
3471 River Hills Drive
Cincinnati, Ohio 45244
Telephone: 513.271.3700
Orders/Customer Service:
800.543.1980
Technical Support Center:
800.343.3858
Information Fax: 513.272.5432
Ordering Fax: 513.271.0124

EC REP

Authorized Representative

Meridian Bioscience Europe S. r. L
Via dell' Industria, 7
20020 Villa Cortese, Milano
ITALY
Tel: +39 0331 43 36 36
Fax: +39 0331 43 36 16
Email: info@meridianbioscience.eu
WEB: www.meridianbioscience.eu

Meridian Bioscience Europe s.a./n.v.
2 Avenue du Japon - 1420 Braine l'Alleud
BELGIUM
Tel: +32 (0) 67 89 59 59
Fax: +32 (0) 67 89 59 58
Email: info.bnl@meridianbioscience.eu

Meridian Bioscience Europe France
34 rue de Ponthieu - 75008 Paris
FRANCE
Tel: +33 (0) 1 42 56 04 40
Fax: +33 (0) 9 70 06 62 10
Email: info.fr@meridianbioscience.eu

Meridian Bioscience Europe b.v.
Postbus 301 - 5460 AH Veghel
NETHERLANDS
Tel: +31 (0) 411 62 11 66
Fax: +31 (0) 411 62 48 41
Email: info.bnl@meridianbioscience.eu

INTERNATIONAL SYMBOL USAGE

You may see one or more of these symbols on the labeling/packaging of this product:

Key guide to symbols (Guida ai simboli, Guide des symbols, Guia de simbolos, Erläuterung der graphischen symbole)

	Use By / Utilizzare entro / Utiliser jusque / Fecha de caducidad / Verwendbar bis	CONTROL +	Positive control / Controllo positivo / Contrôle positif / Control positivo / Positive Kontrolle
LOT	Batch Code / Codice del lotto / Code du lot / Código de lote / Chargenbezeichnung	CONTROL −	Negative control / Controllo negativo / Contrôle négatif / Control negativo / Negative Kontrolle
IVD	In vitro diagnostic medical device / Dispositivo medico-diagnostico in vitro / Dispositif medical de diagnostic in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / In-Vitro-Diagnostikum	EC REP	Authorized Representative in the European Community / Rappresentante Autorizzato nella Comunità Europea / Représentant autorisé dans la Communauté européenne / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft
CE	This product fulfills the requirements of Directive 98/79/EC on in vitro diagnostic medical devices / Questo prodotto soddisfa i requisiti della Direttiva 98/79/CE sui dispositivi medico-diagnostici in vitro / Ce produit répond aux exigences de la Directive 98/79 CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro / Este producto cumple con las exigencias de la Directiva 98/79/CE sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro / Dieses Produkt entspricht den Anforderungen der Richtlinie über In Vitro Diagnostica 98/79/EG.	SMP PREP DIL SPE	Sample Preparation Apparatus containing Sample Diluent / Dispositivo per la preparazione del campione contenente il diluente del campione / Système pour la préparation de l'échantillon, diluant inclus / Aparato para Preparación de Muestra con Diluyente de Muestra / System zur Probenvorbereitung, in dem sich Probenverdünngspuffer befindet
		STERILE R	Sterilization by gamma irradiation / Sterilizzazione con raggi gamma / Stérilisation par irradiation aux rayons gamma / Esterilizado por irradiación gamma / Sterilisation durch Gammastrahlen
REF	Catalogue number / Numero di catalogo / Référence du catalogue / Número de catálogo / Bestellnummer		Do not freeze / Non congelare / Ne pas congeler / No congelar / Nicht Einfrieren
	Consult Instructions for Use / Consultare le istruzioni per l'uso / Consulter les instructions d'utilisation / Consulte las instrucciones de uso / Gebrauchsanweisung beachten	RoHS	Restriction of Hazardous Substances / Restrizione all'uso di sostanze pericolose / Limitation de substances dangereuses / Restricción de Substancias Nocivas / Beschränkung der Verwendung bestimmter gefährlicher Stoffe
	Manufacturer / Fabbricante / Fabricant / Fabricante / Hersteller		Caution, consult accompanying documents / Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso / Attention voir notice d'instructions / Atención, ver instrucciones de uso / Achtung, Begleitdokumente beachten
SN	Serial number / Numero di serie / Numéro de série / Número de serie / Seriennummer	STERILE EO	Sterilization by ethylene oxide / Sterilizzazione con ossido di etilene / Stérilisation par oxyde d'éthylène / Esterilizado por oxidodo etileno / Sterilisation durch Ethylenoxid
Σ	Contains sufficient for <n> tests / Contenuto sufficiente per "n" saggi / Contenu suffisant pour "n" tests / Contenido suficiente para <n> ensayos / Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen	BUF RXN	Reaction Buffer / Tampone di reazione / Solution de réaction tamponnée / Tampón de Reacción / Reaktionspuffer
	Temperature limitation / Limiti di temperatura / Limites de température / Límite de temperatura / Temperaturbegrenzung		ETL Registered Mark Certified / Marchio di certificazione registrato a livello nazionale / Certifié Conforme ETL / Marca de Certificación Registrada Nacional / ETL Konform beglaubigt
	Female / Femminile / De sexe féminin / Hembra / Frau		Recycle – do not dispose of as general waste / Riciclare – non eliminare come rifiuto generico / Recycler – ne pas jeter dans une poubelle / Reciclé – no deseche como basura general / Recycling- dieses Produkt nicht über den Hausmüll entsorgen
2	Single Use Only / Prodotto Monouso / A usage unique / Para Un Solo Uso / nur für die einmalige Anwendung		
TEST	Test Device / Dispositivo test / Dispositif de test / Dispositivo de Prueba / Testgerät	HT TUBE	Heat Treatment Tube / Provetta per il Trattamento termico / Tube pour le traitement thermique / Tubo de tratamiento de calor / Röhrchen zur Hitzebearbeitung
	Date of manufacture / Data di fabbricazione / Date de fabrication / Fecha de fabricación / Herstellungsdatum		For IVD Performance Evaluation Only / Soltanto per valutazione delle prestazioni / Réactifs IVD reservés à l'évaluation des performances / Sólo para evaluación del funcionamiento / Nur zur IVD Leistungsbewertung
	LASER RADIATION: Avoid Exposure to Beam / RADIAZIONE LASER: Evitare l'esposizione al raggio / RAYONNEMENT LASER: Eviter toute exposition au faisceau / Radiación Laser: Evite Exposición a los Rayos / LASERSTRAHLUNG: Direkten Kontakt mit dem Strahl vermeiden		HOT SURFACE: Keep hands Away from Hot Surfaces / Superficie calda: tenere le mani lontane dalle superfici calde / SURFACES CHAUDES: Ne pas toucher les surfaces chaudes / Superficie Caliente: Mantenga las manos alejadas de la superficie caliente / Heiße Oberfläche: Kontakt mit heißen Oberflächen vermeiden
CAUTION	CAUTION: Laser Radiation / ATTENZIONE: Radiazione Laser / AVERTISSEMENT: Rayonnement laser / Precaución: Radiación Laser / WARNUNG: Laserstrahlung	IPX-0	CAUTION: Protect from water / ATTENZIONE: Proteggere dall'acqua / AVERTISSEMENT: Protéger de l'humidité / Precaución: Proteja del agua / WARNUNG: Vor Feuchtigkeit schützen
	CAUTION: Risk of Danger / ATTENZIONE: Pericolo / AVERTISSEMENT: Risques de danger / Precaución: Peligroso / WARNUNG: Risikogefahr	CONTROL	Assay Control / Controllo del test / Test de contrôle / Control de Ensayo / Kontrolltest
BUF	Buffer / Soluzione tampone / Solution tamponnée / Tampón / Puffer		Warning / Avvertenze / Mise En Garde / Advertencia / Warnhinweise
MIN OIL	Mineral Oil / Olio Minerale / Huile Minérale / Aceite Mineral / Mineralöl	MEDIA	Media / Terreno di trasporto / Milieux / Medio / Medium
ST TUBE	Screw Top Tube / Provetta con tappo a vite / Tube à bouchon vissé / Tubo con tapa de rosca / Röhrchen mit Schnappverschluss	COL	Sample Preparation Column / Colonna di preparazione del campione / Colonne pour la préparation de l'échantillon / Columna de preparación de muestra / Säule zur Probenaufarbeitung
BUF SMP	Sample Buffer / Soluzione tampone per il campione / Tampon de l'échantillon / Tampón de muestra / Probenpuffer		

For technical assistance, call Technical Support Services at 800-343-3858 between the hours of 8AM and 6PM, USA Eastern Standard Time. To place an order, call Customer Service Department at 800-543-1980.